



# **INFLUÊNCIA DE ADITIVOS EM SOLOS CONTAMINADOS COM ARSÊNIO NA PRODUÇÃO DE HORTÍCOLAS**

**Cláudia Sofia Heliodoro Esteves**

Dissertação para Obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia do Ambiente – Tecnologias Ambientais**

Orientadora: Professora Associada Ana Carla de Andrade Madeira

Co-orientadora: Professora Catedrática Maria Manuela Silva Nunes Reis Abreu

## **Júri:**

Presidente: Doutora Amarilis Paula Alberti de Varennes e Mendonça, Professora Catedrática do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Maria Manuela Silva Nunes Reis Abreu, Professora Catedrática do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Ana Carla de Andrade Madeira, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor Nuno Renato da Silva Cortez, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Lisboa, 2009



## AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar à minha orientadora, a Prof. Dra. Ana Carla Madeira, por todo o interesse, apoio e disponibilidade demonstrados, quer durante a fase experimental do trabalho, quer na elaboração escrita da tese. Agradeço também à minha co-orientadora, a Prof. Dra. Maria Manuela Abreu, pela sua colaboração na elaboração do ensaio e pela ajuda prestada ao longo do trabalho. A ambas um sincero agradecimento pela partilha de conhecimentos e pelo tempo dedicado à atenta revisão do presente trabalho.

Agradeço também à Prof. Dra. Amarilis de Varennes pelo seu apoio. Ao pessoal dos laboratórios do Departamento de Química Agrícola e Ambiental do Instituto Superior de Agronomia, nomeadamente Paula Silva, Marie-Christine Morais e D. Isabel, agradeço a ajuda na realização das análises efectuadas. Ao Paulo Marques agradeço a ajuda com a realização da análise estatística dos dados.

Aos meus pais agradeço a oportunidade que me proporcionaram de realizar o curso e ao meu irmão pelos incentivos. Obrigada pelo apoio que sempre me deram ao longo dos anos.

Finalmente, um agradecimento muito especial a todos os meus amigos pelas horas de estudo e essencialmente pelos bons momentos passados nos últimos anos, sem vocês não teria sido tão divertido. Embora todos tenham um cantinho especial não posso deixar de dizer muito obrigada à Alíria Fernandes, ao José Augusto Jorge e ao Sérgio Baptista pela ajuda na fase experimental do trabalho e pelo incentivo em todos os momentos mas, acima de tudo, pela amizade sincera desde o primeiro ano de faculdade. Obrigada ainda à Cátia Gonçalves por estar comigo nos bons e maus momentos, ainda antes da entrada no ISA.

A todos muito obrigada por tudo!

Cláudia

## RESUMO

No presente trabalho estudou-se o efeito da presença de diferentes aditivos no comportamento do arsénio num solo naturalmente contaminado. Analisaram-se vários parâmetros de caracterização dos solos (com e sem aditivos) e comparou-se o comportamento de duas hortícolas (tomateiro e salsa) quanto à absorção e acumulação de arsénio. Os resultados obtidos indicam que existem diferenças quanto à disponibilidade de arsénio no solo na presença de aditivos: os óxidos de ferro ( $3 \text{ g kg}^{-1}$ ) tendem a reduzir a disponibilidade do arsénio, enquanto que a matéria orgânica e os fosfatos de cálcio ( $4$  e  $12 \text{ g kg}^{-1}$ ) induzem um efeito contrário. Embora ambas as espécies tenham sido afectadas pela toxicidade do arsénio, comportaram-se de forma diferente relativamente ao seu desenvolvimento e crescimento e à translocação do elemento. Os tomateiros apresentaram maior crescimento em solos com matéria orgânica como aditivo, em termos de altura, comprimento de folhas, teor relativo de clorofila, peso seco e produção de frutos. Pelo contrário, a salsa apresentou o seu melhor crescimento no solo com fosfato de cálcio como aditivo ( $12 \text{ g kg}^{-1}$ ). Embora nenhuma das espécies se comporte como acumuladora de arsénio, a salsa tende a translocar maiores quantidades de arsénio para a sua parte aérea relativamente ao tomateiro.

**Palavras-chave:** aditivos; arsénio; contaminação de solos; salsa; tomateiro; toxicidade

## ABSTRACT

The effects of different amendments on a naturally contaminated soil with arsenic were studied. Several soil characteristics were analysed and the behaviour of two vegetables (tomato and Italian parsley), in terms of arsenic absorption and translocation, was examined. The results indicate differences associated with the availability of arsenic in the soil in the presence of amendments: iron oxides ( $3 \text{ g kg}^{-1}$ ) tend to reduce arsenic availability and organic matter and calcium phosphates seem to induce the opposite effect. Though both plant species have been affected by arsenic toxicity, the response relatively to plant development and growth and to arsenic translocation was different. Tomato plants presented greater growth when organic matter was used as amendment in terms of height, leaf length, relative chlorophyll content, dry weight and fruit production. By the contrary, the Italian parsley growth presented the best growth when calcium phosphate was added to the contaminated soil. Though none of the plant species was considered as arsenic accumulators, the Italian parsley tends to translocate more arsenic to their leaves than tomato plants.

**Key words:** amendments; arsenic; soil contamination; Italian parsley; tomato; toxicity

## EXTENDED ABSTRACT

Mining is one of the main sources of soil contamination, being a serious issue in soils used for agricultural activities. Due to frequent abandonment of inactive mining areas without the implementation of remediation actions, the toxic elements present in the soil may cause environmental and health risks. Arsenic is a toxic element present at high concentrations at the abandoned Santo António Mine (Penedono) and its mobility is affected by soil characteristics and also by the presence of other elements in the soil, such as iron and phosphorous. When available in the soil, arsenic may be leached to water streams or absorbed by plants making its way to human diet. Once inside the human body it may cause cancer and other diseases.

This study was elaborated to determine the influence of soil amendments on arsenic behaviour and its absorption by plants. The chosen amendments were iron oxides at two concentrations, organic matter and calcium phosphates at two concentrations. It was also used the original contaminated soil without amendments and an uncontaminated soil from another region. The experiment was carried out under controlled conditions and two vegetable species studied (tomato and Italian parsley). For each amendment there were five replicates of soil with tomato plants, soil with Italian parsley and soil without plants. During the development and growth of tomato plants several measurements were made, such as plant heights, length of the 4<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> leaves and its relative chlorophyll content (the 6<sup>th</sup> leaf was measured only at those treatments presenting the best growths). The height and the leaves relative chlorophyll content were measured in Italian parsley plants. After the harvest of both species, the plants fresh and dry weights were determined; the soil from all treatments was analysed in terms of pH, organic carbon, phosphorous, potassium and nitrogen contents and the soil enzymatic activities measured by the dehydrogenase and acid phosphatase.

The results show that arsenic availability in the soil varied with the use of the amendments. Organic matter and calcium phosphates increased the metalloid availability, especially at the highest calcium phosphate concentration (12 g kg<sup>-1</sup>), while iron oxides (3 g kg<sup>-1</sup>) reduced arsenic availability on the soil. However, the best tomato plants growth was observed when the former amendments were added to soil. The soil amended with iron oxide did not show any positive effect on tomato growth compared with the original soil with no amendments. Amongst all the amendments, organic matter showed the best results relatively to plant heights, leaf length, relative chlorophyll content, dry weights and fruit production. It also improved soils organic carbon content and phosphorous, potassium and nitrogen concentrations. Dehydrogenase activity was not significantly affected by either the presence of the amendments or the presence of the plants, while the phosphatase activity

increased with the addition of organic matter to the contaminated soil.

Italian parsley growth was, in general, very low except when calcium phosphate at the highest concentration ( $12 \text{ g kg}^{-1}$ ) was added to soil, the plants showing a development as good as the plants growing at the uncontaminated soil. This result indicates differences on the behaviour of the two plant species relatively to arsenic contamination. Even though none of the species behaved as arsenic accumulators, Italian parsley seems to translocate higher concentrations of arsenic to leaves, while tomato plants mainly retain the element in roots. Despite the high concentrations of arsenic found in tomato stems and leaves, the phytotoxic symptoms presented by these plants may also have been caused by other elements. In fact, the tomato plants showing the smallest development and growth presented high levels of aluminium and zinc in their shoots, which may have been responsible for their poor growth. High concentrations of zinc were found in Italian parsley leaves as well in all the treatments, except the one with better growth (calcium phosphate at  $12 \text{ g kg}^{-1}$ ).

This study shows that, when applying amendments to the soil, is important to evaluate its effects on the other elements. Specilly at contaminated sites the increase on the availability of toxic elements may cause negative impacts on the environment, humans and animals.

**Key words:** amendments; arsenic; soil contamination; Italian parsley; tomato; toxicity

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	iii
ÍNDICE DE QUADROS .....	v
INTRODUÇÃO .....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
<b>1. CONTAMINAÇÃO DO SOLO</b> .....	<b>3</b>
1.1 A Extracção Mineira .....	4
<b>2. O ARSÉNIO</b> .....	<b>6</b>
2.1 Caracterização Química .....	6
2.2 O Arsénio através da História .....	6
2.3 Fontes e Utilização .....	7
<b>3. EFEITOS DO ARSÉNIO NO SOLO, NAS PLANTAS E NOS SERES HUMANOS</b> .....	<b>9</b>
3.1 O Arsénio no Solo .....	9
3.2 O Arsénio nas Plantas .....	12
3.3 O Arsénio nos Seres Humanos .....	17
<b>4. EFEITO DE ADITIVOS NO COMPORTAMENTO DO ARSÉNIO NO SISTEMA SOLO – PLANTA</b> .....	<b>18</b>
4.1 Óxidos e oxi-hidróxidos de ferro .....	18
4.2 Matéria orgânica .....	19
4.3 Fosfatos .....	20
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
<b>1. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DO SOLO EM ESTUDO</b> .....	<b>21</b>
1.1 Características dos solos e tratamentos efectuados .....	22
<b>2. INSTALAÇÃO E DESCRIÇÃO DO ENSAIO</b> .....	<b>25</b>
2.1 Preparação dos vasos .....	25
2.2 Material vegetal .....	26
2.3 Medições da altura das plantas, do comprimento das folhas e do teor relativo de clorofila ..	27
2.4 Determinação do peso fresco e seco das plantas – colheita parcial e final .....	27
<b>3. CARACTERÍSTICAS DO SOLO CONTAMINADO E ANÁLISE ELEMENTAR DAS PLANTAS APÓS A COLHEITA</b> .....	<b>28</b>
<b>4. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS</b> .....	<b>28</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
<b>1. ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO DA CULTURA DE TOMATE</b> .....	<b>29</b>
1.1 Altura dos tomateiros .....	29
1.2 Comprimento dos folíolos terminais correspondentes à 4ª e 6ª folhas .....	31
1.3 Teor relativo de clorofila dos folíolos terminais correspondentes às 4ª e 6ª folhas .....	32
1.4 Determinação do peso fresco e seco – colheita parcial e final .....	34
<b>2. ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO DA CULTURA DA SALSA</b> .....	<b>42</b>
2.1 Germinação .....	42



2.2 Altura da salsa .....	45
2.3 Teor relativo de clorofila das folhas de salsa .....	45
2.4 Determinação do peso fresco e seco da salsa.....	46
<b>3. CARACTERÍSTICAS DO SOLO CONTAMINADO APÓS A COLHEITA DAS PLANTAS .....</b>	<b>47</b>
3.1 pH .....	48
3.2 Fósforo assimilável .....	48
3.3 Potássio assimilável .....	49
3.4 Determinação do teor em Carbono Orgânico.....	50
3.5 Azoto orgânico e mineral .....	51
<b>4. ACTIVIDADE ENZIMÁTICA.....</b>	<b>53</b>
4.1 Desidrogenase.....	53
4.2 Fosfatase ácida .....	55
<b>5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ARSÉNIO DAS PLANTAS .....</b>	<b>56</b>
<b>6. RELAÇÃO ENTRE O TEOR DE ARSÉNIO E OUTROS ELEMENTOS NAS PLANTAS.....</b>	<b>66</b>
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXO I – MÉTODOS UTILIZADOS NAS ANÁLISES AO SOLO E ÀS PLANTAS.....</b>	<b>I</b>
<b>1. Métodos utilizados nas análises ao solo.....</b>	<b>I</b>
1.1 Determinação da fracção total de alguns elementos .....	I
1.2 Síntese da goethite .....	I
1.3 Determinação do pH.....	I
1.4 Determinação do fósforo assimilável.....	I
1.5 Determinação do potássio assimilável .....	II
1.6 Determinação do carbono orgânico .....	II
1.7 Determinação da fracção de azoto mineral.....	II
1.8 Determinação da fracção de azoto orgânico.....	III
1.9 Actividade enzimática .....	III
<b>2. Método utilizado na análise das plantas .....</b>	<b>IV</b>
2.1 Determinação do teor de arsénio e outros elementos minerais das plantas .....	IV
<b>ANEXO II – CARACTERÍSTICAS DO SOLO APÓS COLHEITA DAS PLANTAS .....</b>	<b>V</b>
<b>ANEXO III – CONCENTRAÇÕES DE ALGUNS ELEMENTOS MINERAIS NA PARTE AÉREA, PARTE RADICULAR DAS PLANTAS E FRUTOS DOS TOMATEIROS.....</b>	<b>VI</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Em pormenor, o Distrito de Viseu, onde se encontra a vila de Penedono, com a localização aproximada da Mina de Santo António. ....	22
Figura 2 – Altura média dos tomateiros nos tratamentos Fe <sub>1</sub> , Fe <sub>3</sub> e C <sub>PENEDONO</sub> , de 30 a 90 dias após o transplante (DAT). ....	29
Figura 3 – Altura média dos tomateiros nos tratamentos MO, PCa <sub>4</sub> , PCa <sub>12</sub> e C <sub>PEGÕES</sub> , de 30 a 90 dias após o transplante (DAT) ....	30
Figura 4 – Comprimento médio do folíolo terminal da 4ª folha em todos os tratamentos, de 30 a 90 dias após o transplante (DAT). ....	31
Figura 5 – Comprimento médio do folíolo terminal da 6ª folha de tomateiro nos tratamentos MO, PCa <sub>4</sub> , PCa <sub>12</sub> e C <sub>PEGÕES</sub> , de 56 a 90 dias após o transplante (DAT). ....	32
Figura 6 – Teores relativos de clorofila do folíolo terminal da 4ª folha de tomateiro em todos os tratamentos, de 30 a 90 dias após o transplante (DAT). ....	33
Figura 7 – Teores relativos de clorofila da 6ª folha de tomateiro nos tratamentos MO, PCa <sub>4</sub> , PCa <sub>12</sub> e C <sub>PEGÕES</sub> , de 56 a 90 dias após o transplante (DAT) ....	34
Figura 8 – Aspecto dos tomateiros 20 dias após transplante nos tratamentos Fe <sub>1</sub> , Fe <sub>3</sub> , PCa <sub>4</sub> , MO, C <sub>PEGÕES</sub> e PCa <sub>12</sub> . ....	35
Figura 9 – Aspecto dos tomateiros de MO, C <sub>PEGÕES</sub> , PCa <sub>4</sub> , PCa <sub>12</sub> , Fe <sub>1</sub> , Fe <sub>3</sub> e C <sub>PENEDONO</sub> 41 dias após transplante. ....	36
Figura 10 – Aspecto dos tomateiros 65 dias após transplante nos tratamentos Fe <sub>1</sub> , Fe <sub>3</sub> e C <sub>PENEDONO</sub> . ....	37
Figura 11 – Aspecto dos tomateiros 65 dias após transplante nos tratamentos MO, PCa <sub>4</sub> , PCa <sub>12</sub> e C <sub>PEGÕES</sub> . ....	37
Figura 12 – Aspecto dos tomateiros 135 dias após transplante no tratamento MO; em pormenor, os frutos. ....	38
Figura 13 – Aspecto visual relativo ao desenvolvimento vegetativo de C <sub>PEGÕES</sub> e MO a 65 dias após transplante. ....	40
Figura 14 – Germinação da salsa em todos os tratamentos, de 11 a 25 dias após a sementeira (DAS). ....	43
Figura 15 – Aspecto da salsa nos tratamentos PCa <sub>4</sub> , PCa <sub>12</sub> , C <sub>PEGÕES</sub> , Fe <sub>1</sub> , Fe <sub>3</sub> e C <sub>PENEDONO</sub> a 28 dias após sementeira. ....	44
Figura 16 – Aspecto da salsa nos tratamentos PCa <sub>12</sub> , C <sub>PEGÕES</sub> , MO, PCa <sub>4</sub> , Fe <sub>1</sub> , Fe <sub>3</sub> e C <sub>PENEDONO</sub> a 49 dias após sementeira. ....	44
Figura 17 – Teores relativos de clorofila da salsa nos tratamentos PCa <sub>12</sub> e C <sub>PEGÕES</sub> , de 38 a 57 dias após a sementeira (DAS). ....	45
Figura 18 – Aspecto da salsa nos tratamentos Fe <sub>1</sub> , Fe <sub>3</sub> , MO, PCa <sub>4</sub> , PCa <sub>12</sub> , C <sub>PENEDONO</sub> e C <sub>PEGÕES</sub> a 57 dias após sementeira. ....	46
Figura 19 – Teor de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg kg <sup>-1</sup> ) nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas. ....	49
Figura 20 – Teor de K <sub>2</sub> O (mg kg <sup>-1</sup> ) nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das	

plantas. ....	50
Figura 21 – Teor em carbono orgânico nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas. ....	51
Figura 22 – Teores de $N_{\text{ORGÂNICO}}$ ( $\text{g kg}^{-1}$ ) nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas. ....	52
Figura 23 – Teores de $N_{\text{MINERAL}}$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) nos diferentes tratamentos. ....	53
Figura 24 – Actividade da desidrogenase nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas. ....	54
Figura 25 – Actividade da fosfatase ácida nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas. ....	55
Figura 26 – Relação entre o teor em arsénio na raiz e na parte aérea do tomateiro. ....	57
Figura 27 – Relação entre o teor em arsénio na raiz e na parte aérea da salsa. ....	57
Figura 28 – Relação entre a concentração total de arsénio e a concentração total de fósforo na raiz do tomateiro. ....	60
Figura 29 – Relação entre a concentração total de arsénio e a concentração total de fósforo na raiz de salsa. ....	61
Figura 30 – Relação entre a concentração disponível de arsénio no solo e a concentração de arsénio na raiz do tomateiro. ....	62
Figura 31 – Relação entre a concentração disponível de arsénio no solo e a concentração de arsénio na parte aérea do tomateiro. ....	63
Figura 32 – Relação entre a concentração disponível de arsénio no solo e a concentração de arsénio na raiz da salsa. ....	63
Figura 33 – Relação entre a concentração disponível de arsénio no solo e a concentração de arsénio na parte aérea da salsa. ....	64
Figura 34 – Relação entre a concentração de arsénio na parte aérea e a concentração de arsénio nos frutos de tomateiro. ....	65

## ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 – Principais características do solo de Penedono anteriormente à colocação dos aditivos e do solo de Pegões.....	23
Quadro 2 – Capacidade de troca catiónica (CTC), catiões de troca (Ca, Mg, K, Na), soma dos catiões de troca (S) e percentagem de saturação dos locais de troca (V) do solo de Penedono anteriormente à colocação dos aditivos .....	23
Quadro 3 – Principais características do solo de Penedono após a colocação dos aditivos e respectiva incubação de 17 meses (fracção disponível de arsénio extraída com cloreto de cálcio) ...	24
Quadro 4 – Capacidade de troca catiónica (CTC), catiões de troca (Ca; Mg; K; Na), soma dos catiões de troca (S) e percentagem de saturação dos locais de troca (V) do solo de Penedono após a colocação dos aditivos .....	24
Quadro 5 – Temperaturas médias (T média), máximas (T máx.) e mínimas (T min.), humidade relativa (HR) e período de insolação entre Outubro de 2007 e Fevereiro de 2008.....	25
Quadro 6 – Pesos frescos (PF) e secos (PS) da parte aérea de tomateiros à colheita parcial (a 28 DAT) para todos os tratamentos .....	36
Quadro 7 – Razão raiz/parte aérea (relativamente ao peso seco), e pesos frescos (PF) e secos (PS) da parte aérea e radicular de tomateiros à colheita final (a 90, 112 e 138 DAT) para todos os tratamentos.....	39
Quadro 8 – Número de folhas, flores e frutos nos tratamentos MO, PCa <sub>4</sub> , PCa <sub>12</sub> e C <sub>PEGÕES</sub> .....	40
Quadro 9 – Pesos frescos (PF) e secos (PS) da parte aérea (caules, folhas, flores e frutos) de tomateiros, à colheita final (a 112 e 138 DAT) nos tratamentos MO, PCa <sub>4</sub> , PCa <sub>12</sub> e C <sub>PEGÕES</sub> .....	41
Quadro 10 – Taxa de germinação da salsa nos vários tratamentos .....	43
Quadro 11 – Pesos frescos (PF) e secos (PS) da parte aérea e da parte radicular de salsa à colheita final (59 DAS) para todos os tratamentos .....	47
Quadro 12 – Concentrações médias de arsénio na raiz e na parte aérea do tomateiro (colheita final) e da salsa .....	56
Quadro 13 – Relação percentual entre a concentração de arsénio na raiz e na parte aérea no tomateiro e na salsa .....	58
Quadro 14 – Coeficiente de transferência de arsénio do solo para a parte aérea das plantas de tomateiro e salsa .....	59
Quadro 15 – Concentrações médias de fósforo na raiz e na parte aérea do tomateiro (colheita final) e da salsa .....	60
Quadro 16 – Concentrações adequadas de alguns macronutrientes na parte aérea da cultura do tomate (adaptado de Varennes, 2003).....	61
Quadro 17 – Concentrações de As, Al, Mg, Zn e Mn na parte aérea do tomateiro (colheita parcial a 28 dias após transplante) .....	65
Quadro 18 – Concentração de As nos frutos do tomateiro.....	65
Quadro 19 – Concentrações adequadas de macro e micronutrientes e elementos benéficos (E.B.) na parte aérea das plantas (adaptado de Varennes, 2003).....	66

Quadro 20 – Concentrações em mg kg <sup>-1</sup> de alumínio, magnésio, zinco e mangnês na parte aérea dos tomateiros e de zinco e manganês na parte aérea da salsa .....	67
Quadro 21 – Teores de pH, matéria orgânica, carbono orgânico, azoto orgânico, azoto mineral, fósforo assimilável, potássio assimilável e actividade da desidrogenase (µg TPF g <sup>-1</sup> matéria seca 16h <sup>-1</sup> ) e da fosfatase ácida (µmol p-nitrofenol g <sup>-1</sup> matéria seca 1h <sup>-1</sup> ) .....	V
Quadro 22 – Concentração de sódio, potássio, cálcio, ferro e cobre nos caules e folhas dos tomateiros (colheita final) em mg kg <sup>-1</sup> .....	VI
Quadro 23 – Concentração de sódio, magnésio, alumínio, potássio, cálcio, ferro e cobre na parte aérea da salsa em mg kg <sup>-1</sup> .....	VI
Quadro 24 – Concentração de sódio, magnésio, alumínio, potássio, cálcio, manganês, ferro, cobre e zinco na raiz dos tomateiros em mg kg <sup>-1</sup> .....	VII
Quadro 25 – Concentração de sódio, magnésio, alumínio, potássio, cálcio, manganês, ferro, cobre e zinco na raiz da salsa em mg kg <sup>-1</sup> .....	VIII
Quadro 26 – Concentração de sódio, fósforo, potássio, cálcio, ferro e cobre nos caules e folhas da colheita parcial dos tomateiros (28 dias após transplante) em mg kg <sup>-1</sup> . Desvio-padrão entre parêntesis. ....	IX
Quadro 27 – Concentração de sódio, magnésio, alumínio, fósforo, potássio, cálcio, manganês, ferro, cobre e zinco nos frutos dos tomateiros em mg kg <sup>-1</sup> . Desvio-padrão entre parêntesis .....	IX

## INTRODUÇÃO

A questão da contaminação dos solos tem vindo a ganhar maior relevância ambiental devido, entre outros problemas, à degradação de solos agrícolas. Entre as várias fontes antrópicas de elementos contaminantes a actividade mineira é uma das mais importantes, sendo comum o abandono dos locais de extracção, sem ser efectuado qualquer tipo de recuperação ambiental. A Mina de Santo António (Penedono) enquadra-se nesta questão encontrando-se os seus solos contaminados com vários elementos contaminantes em concentrações elevadas, como é o caso do arsénio. A mobilidade e disponibilidade deste elemento depende da sua especiação, das características do solo e da presença de outros elementos, pelo que o arsénio pode ser absorvido pelas plantas ou ser lixiviado para águas superficiais e/ou subterrâneas levando à contaminação dos ecossistemas.

A maioria das espécies vegetais é afectada negativamente quando a fracção de arsénio disponível no solo é elevada e apresentam sintomas de fitotoxicidade visíveis. No entanto, algumas espécies conseguem desenvolver-se em locais contaminados com arsénio, sem que seja visível a presença de efeitos tóxicos, embora contenham concentrações elevadas de arsénio na sua constituição. Assim, quer através da ingestão de águas contaminadas, quer através do consumo de plantas contaminadas com arsénio, existe o risco de entrada do elemento na dieta alimentar humana. Devido à sua toxicidade, uma vez no interior do organismo humano, o arsénio pode ser causador de doenças letais.

A disponibilidade deste metalóide pode também ser influenciada pela presença de outros elementos como o ferro e o fósforo. O arsénio tende a ser adsorvido nos óxidos de ferro do solo o que leva a uma diminuição da sua disponibilidade para as plantas. Assim, para concentrações de óxidos de ferro mais elevadas a fracção disponível de arsénio no solo será menor. Por outro lado, os fosfatos aumentam a disponibilidade de arsénio no solo, pois ambos os elementos competem pelos mesmos locais de adsorção no solo.

A importância deste tipo de estudos relaciona-se, não só, com o aprofundar de conhecimentos sobre o comportamento das espécies vegetais na presença de determinados contaminantes mas também devido a questões ambientais e de saúde pública. Com este estudo pretende-se determinar os efeitos de aditivos no comportamento do arsénio e avaliar o comportamento de duas hortícolas largamente utilizadas na cozinha mediterrânica, o tomate e a salsa, num solo naturalmente contaminado com arsénio. Para tal foi realizado um ensaio, em ambiente controlado, com as duas espécies e utilizaram-se, como aditivos, óxidos de ferro, matéria orgânica e fosfatos de cálcio.

Os objectivos do trabalho são:

- a) Estudar o efeito destes aditivos na assimilação do arsénio e sua influência no crescimento de duas hortícolas, o tomateiro e a salsa, através da análise de vários parâmetros relativos ao seu crescimento e desenvolvimento: medição da altura das plantas, o comprimento das folhas e do teor foliar de clorofila ao longo do ciclo vegetativo e a determinação dos pesos frescos e secos após a colheita e determinação das concentrações de arsénio e outros elementos minerais das plantas.
- b) Comparar o comportamento das duas plantas em relação à presença do arsénio no solo e quanto à sua absorção pelas raízes e translocação para a parte aérea.
- c) Analisar os efeitos dos aditivos e das plantas nas características do solo (em termos dos seus teores em fósforo, potássio, carbono orgânico e azoto orgânico e mineral) e da sua actividade enzimática (desidrogenase e fosfatase ácida).

O presente trabalho encontra-se dividido em cinco secções. Na presente secção, Introdução, é feita uma pequena abordagem ao tema pesquisado e são apresentados os objectivos do trabalho. Na segunda secção é feita uma revisão bibliográfica referente ao tema de incidência do trabalho. Nos Materiais e Métodos são descritas as características dos solos e plantas utilizadas, bem como a descrição do ensaio experimental e os métodos utilizados. Nos Resultados e Discussão são apresentados e discutidos os resultados obtidos no trabalho e nas Conclusões encontram-se as conclusões retiradas da elaboração deste trabalho. No fim do trabalho encontram-se, em Anexo, a descrição dos procedimentos laboratoriais realizados e a análise estatística efectuada aos dados obtidos.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1. CONTAMINAÇÃO DO SOLO

O solo é um sistema integrado essencial à sobrevivência e evolução da vida na Terra visto constituir o substrato que permite a obtenção de alimento, podendo ainda, entre outras funções ser receptor e transformador de resíduos (Carter, 1999). Assim, é fundamental definir o conceito de qualidade do solo proveniente da necessidade de efectuar uma utilização sustentável do mesmo. Carter (1999) adopta como definição de qualidade do solo “a capacidade de funcionamento do solo, num ecossistema definido e limitado, de forma a manter a actividade biológica e a qualidade ambiental, bem como, promover a saúde vegetal, ambiental e humana”. Para definir o grau de qualidade de um solo torna-se, então, necessário recorrer à análise de vários parâmetros físicos, químicos e biológicos do mesmo (Gil-Sotres *et al.*, 2005).

Os elementos químicos presentes na Terra encontram-se nos vários compartimentos ambientais em teores distintos mas devido a vários processos, naturais ou antrópicos, o equilíbrio existente pode cessar dando origem a focos de contaminação (Freedman, 1995). Os elementos vestigiais são dos elementos mais investigados e que causam maior preocupação devido à sua extrema toxicidade para os seres vivos (Häni, 1994; Tejada *et al.*, 2008a).

Apesar da contaminação dos solos ser um problema grave pois pode afectar os sistemas agrícolas e as águas superficiais e subterrâneas e colocar em risco os ecossistemas e a saúde humana, apenas nas últimas décadas esta temática começou a ser tratada com maior relevância (Reible, 1998). A atenção dada a esta problemática está em crescimento também em Portugal, sendo essencial no controlo dos riscos inerentes à dispersão de contaminantes (Sequeira e Coelho, 2006). Segundo estes autores no ano 2000 existiam em Portugal 22 mil locais onde ocorriam solos e aquíferos contaminados, maioritariamente devido ao sector industrial.

Para fazer face a esta questão importa, antes de mais, conhecer as fontes poluidoras, bem como os efeitos dos contaminantes, a extensão da contaminação e as medidas de combate aplicáveis (Häni, 1994). Relativamente às fontes naturais de contaminação de solos Freedman (1995) salienta, como principal, a meteorização de minerais que tenham na sua constituição elementos contaminantes. Este autor refere ainda as emissões provocadas por desastres naturais, tal como a actividade vulcânica onde são expelidos elementos químicos voláteis que podem ser tóxicos.



No entanto, as fontes antrópicas são as maiores causadoras de contaminação dos ecossistemas, nos quais se inclui o solo. De notar que em 1982 e referindo-se ao arsénio, estimava-se que a emissão deste elemento por fontes naturais e antrópicas seria de 28 000 Mg e 780 000 Mg, respectivamente (Galloway *et al.*, 1982 “*cit. in*” Freedman, 1995). Neste grupo encontra-se a actividade agrícola devido à aplicação de pesticidas, fertilizantes e adubos químicos – principalmente adubos azotados e fosfatados (Bosch e Wolfe, 1999) – a actividade industrial, incluindo a mineira e os combustíveis fósseis (Freedman, 1995).

A rapidez e extensão da contaminação nos ecossistemas terrestres dependerá das características intrínsecas dos solos como a sua capacidade de troca catiónica, o teor em matéria orgânica, o pH e o potencial redox do solo, o teor e características da fracção argilosa, etc., que vão interferir na migração dos contaminantes (Häni, 1994; Reible, 1998). Devido aos riscos inerentes à contaminação de um solo, Reible (1998) concluiu que é importante efectuar a sua remediação através de métodos físicos, químicos ou biológicos.

## 1.1 A Extração Mineira

A indústria mineira gera inúmeros impactos ambientais durante a exploração e após a desactivação das minas, mesmo quando estas se encontram inactivas há vários séculos. Segundo Costagliola *et al.* (2008) existem concentrações relativamente elevadas de contaminantes em áreas mineiras cuja exploração ocorreu na Idade Média. Devido aos problemas causados pelo abandono e degradação de minas foi desenvolvido um Projecto de Diagnóstico de Minas Abandonadas, entre 1999 e 2001, pelo Instituto Geológico e Mineiro (IGM) (Oliveira *et al.*, 2002). No âmbito do projecto foram avaliadas 90 áreas mineiras localizadas em Portugal Continental tendo sido definido o seu grau de perigosidade para o ambiente e para a saúde pública. Estas zonas são particularmente afectadas pelos resíduos originados durante a prospecção mineira e deixados no local, cujos elementos químicos se dispersam, por acção do vento ou da água, sob forma particulada ou dissolvida, pelos vários compartimentos ambientais podendo levar à sua contaminação (Oliveira *et al.*, 2002). É de salientar a importância assumida pelas características climáticas e geoquímicas do local em questão na dispersão de contaminantes, tal como o grau de meteorização das escombrelas presentes nas áreas afectadas (Navarro *et al.*, 2008).

As águas de lixiviação das escombrelas das minas podem ser designadas, de acordo com o seu pH, por águas de drenagem neutras ou águas de drenagem ácidas quando apresentam pH menor do que três (Abreu, 2008). As águas de drenagem ácidas são geradas devido ao processo de oxidação da pirite ( $\text{FeS}_2$ ) que ocorre à superfície, devido aos trabalhos de escavação e por acção dos elementos atmosféricos. Este mineral é um dos

mais comuns em minas de ouro, zinco ou cobre e a sua oxidação liberta elevadas quantidades dos seus elementos constituintes, como o ferro e enxofre (Evangelou *et al.*, 1999). Como tal, as águas de drenagem ácidas podem conter grandes concentrações de elementos químicos podendo contaminar solos agrícolas, sedimentos e cursos de água circundantes, originando assim, problemas de fitotoxicidade e colocando em risco a saúde pública (Abreu, 2008; Lee *et al.*, 2008). O Governo dos Estados Unidos estima que, apenas naquele país, as águas ácidas provenientes de minas abandonadas afectem cerca de 19 000 km de leitos de água doce (Evangelou *et al.*, 1999).

Além de dissolução e erosão hídrica as escombreyras sofrem também erosão eólica. A dispersão, a maiores distâncias, das partículas de menor dimensão por acção do vento traduz-se num maior perigo para as povoações próximas de minas pois a sua inalação pode causar problemas de saúde (Lee *et al.*, 2008). Nas áreas vizinhas de explorações mineiras o solo pode ser muito afectado por vários processos. Processos de escavação e deposição de materiais inerentes à actividade mineira, que poderão estar sujeitos a erosão – hídrica e eólica – além de apresentarem frequentemente, teores elevados de vários contaminantes como hidrocarbonetos, metais e metalóides e ainda elementos radioactivos (Abreu *et al.*, 2007). O solo pode assim, sofrer impactos negativos a nível químico levando, entre outros, à alteração da solução do solo o que resultará na modificação das suas características iniciais (Moreno-Jiménez *et al.*, 2008).

Portugal é um país fortemente ligado à exploração mineira desde os primórdios da sua História. As primeiras actividades mineiras efectuadas no País atribuem-se aos Tartéssios, Fenícios, Cartagineses e Romanos (Abreu, 2008) mas a importância económica desta indústria continuou a verificar-se ao longo dos últimos 100 anos. Durante o século XX a exploração de ouro em Portugal realizou-se também no complexo mineiro de Santo António onde era efectuada, entre outros elementos químicos, a extracção de arsénio como produto secundário (Abreu *et al.*, 2007). A mina começou por ser explorada pelos Romanos há mais de 2 000 anos (Saywell, 2007) e mais recentemente, esteve activa desde 1907 até 1957 embora tivessem continuado a decorrer trabalhos de tratamento mineralúrgico até à década de 1970 (Abreu *et al.*, 2007). Quando estes trabalhos cessaram o local ficou ao abandono. Contudo, no Verão de 2007 os trabalhos de prospecção na mina começaram pela mão de uma empresa mineira canadiana (Saywell, 2007) vindo a alterar, de novo, a dinâmica da zona. Segundo a indicação de Oliveira *et al.* (2002) estas minas apresentam um grau de perigosidade para o ambiente elevado. Como tal, é de salientar o facto da população da vila de Penedono – localizada a 3 km a sul da mina – e também os habitantes de povoações vizinhas, recorrerem à actividade agrícola para consumo local (Abreu *et al.*, 2007) podendo a proximidade da mina causar alguns riscos de saúde pública.

## 2. O ARSÉNIO

### 2.1 Caracterização Química

O arsénio (As) é o vigésimo elemento mais abundante na crosta terrestre e encontra-se distribuído por vários ecossistemas (Řezanka e Sigler, 2008). Este elemento é, por vezes, considerado por vários autores como um metal pesado devido à sua toxicidade sobre o ambiente e os seres vivos (Miteva, 2002). Trata-se, no entanto, de um metalóide cristalino que pode ocorrer em três formas alotrópicas de cores amarela, cinzenta e negra (Adriano, 1986). A sua massa molar é de  $74,922 \text{ g mol}^{-1}$  e a forma estável mais vulgar (de tonalidade cinzenta) tem uma densidade de  $5,73 \text{ g cm}^{-3}$ , ponto de fusão a  $817 \text{ °C}$  e ponto de sublimação a  $613 \text{ °C}$ .

O arsénio pertence ao grupo V da Tabela Periódica tal como o azoto (N) e o fósforo (P), apresentando estes elementos algumas semelhanças entre si (Adriano, 1986). Bettencourt (1990) refere que o arsénio apresenta a capacidade de substituir o azoto em alguns compostos orgânicos – interfere, inclusivé, no processo de nitrificação (Magalhães, 2002) – ligando-se facilmente ao carbono, hidrogénio e oxigénio.

Na Natureza, os estados de oxidação do arsénio são -III, 0, +III e V dependendo das condições de oxidação-redução e do pH do meio (Adriano, 1986). A especiação é uma característica química importante visto influenciar a adsorção do arsénio nos minerais do solo, a sua absorção pelas plantas e ainda a sua toxicidade (Kabata-Pendias & Pendias, 2001; Wang e Mulligan, 2006). Esta é menor na espécie orgânica de arsénio, aumentando dos arsenatos (V) para os arsenitos (III) sendo esta última a forma mais tóxica de arsénio para os seres vivos (Warren e Alloway, 2003; Dobran e Zagury, 2006). O arsénio estabelece ligações químicas com a maioria dos metais e não metais formando compostos inorgânicos estáveis que foram largamente utilizados ao longo dos anos na agricultura ou como venenos, para o ser humano e para outros animais (Adriano, 1986).

### 2.2 O Arsénio através da História

Ao longo da História da Humanidade sempre existiram relatos sobre a utilização de arsénio com diversos fins. Philp (1995) refere os registos de Hipócrates em 370 a.C. sobre as dores abdominais sentidas por um trabalhador de uma mina, possivelmente provocadas por arsénio e mercúrio. Ainda no século IV a.C. Aristóteles fazia refências a um composto de arsénio, bem como Plínio no século I d.C., sendo o arsénio já então descrito como um veneno (<http://nautilus.fis.uc.pt/st2.5/scenes-e/elem/e03310.html>). De acordo com Smith

(s/d) o arsénio era a substância mais utilizada como veneno, do Império Romano ao Renascimento, devido a ser incolor, inodoro e não apresentar sabor.

As três formas alotrópicas de arsénio já eram conhecidas no século XI, mas foi Alberto Magno no século XIII, que aprofundou os conhecimentos sobre o elemento (Smith, s/d). Durante o século XVI Paracelso conseguiu formular o óxido de arsénio ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ) dando início ao seu uso na medicina (Philp, 1995), e a partir do século XVIII os conhecimentos sobre o comportamento do elemento permitiram classificá-lo como um semi-metal (<http://nautilus.fis.uc.pt/st2.5/scenes-e/elem/e03310.html>).

Apesar da elevada toxicidade dos compostos de arsénio estes tiveram um importante papel no tratamento de várias doenças antes do aparecimento dos antibióticos, nomeadamente a penicilina, sendo pioneiros no combate a infecções bacterianas (Philp, 1995; Řezanka e Sigler, 2008). Por exemplo, no início do século XX o arsénio foi utilizado no combate à doença do sono e à sífilis e existiam várias preparações à base de arsénio indicadas para doenças de pele, anemia, leucemia e doenças pulmonares (Bettencourt, 1990). Mas a acção tóxica do arsénio prevaleceu sempre aquando da sua utilização.

## 2.3 Fontes e Utilização

O arsénio é considerado um elemento vestigial, ou seja, está presente em pequenas quantidades nos solos, plantas ou animais e vários estudos confirmam tratar-se de um nutriente essencial para o funcionamento de alguns seres vivos (Brady e Weil, 2002). Por exemplo, o arsénio é um dos constituintes dos fosfolípidos de algas e fungos (McBride, 1994), contudo, não se trata de um elemento essencial no crescimento e desenvolvimento das plantas (Chaturvedi, 2006).

A maior fonte natural de arsénio é a meteorização de rochas que contenham este elemento (Wang e Mulligan, 2006) já que se encontra na constituição de cerca de 245 minerais, na sua maioria, associado ao enxofre (Bettencourt, 1990). No entanto, são algumas actividades humanas que devem ser tomadas em atenção quando se refere a contaminação de compartimentos ambientais por arsénio. As principais fontes antrópicas de arsénio são as explorações mineiras de cobalto, cobre, chumbo, ouro e zinco nas quais o metalóide é recuperado como um produto secundário durante a extracção daqueles elementos (Adriano, 1986; Řezanka e Sigler, 2008; Bronkowska *et al.*, 2008). Adriano (1986) refere ainda as águas de arrefecimento de centrais geotérmicas como portadoras de elevadas concentrações deste elemento podendo contaminar os meios de descarga.

Os combustíveis fósseis, nomeadamente, o carvão e o petróleo são também fontes importantes de arsénio para a atmosfera. O  $\text{As}_2\text{O}_3$  é volatilizado durante a combustão dos

combustíveis e forma cinzas que condensam, por arrefecimento, sobre as superfícies (Pinto, 2008). Além dos combustíveis fósseis a produção de cobre e níquel a partir de sulfuretos e também a extracção e refinação de arsénio são processos que dão origem à ocorrência de partículas ou compostos voláteis ricos em arsénio na atmosfera, quer na vizinhança das zonas industriais, quer em locais mais afastados já que as partículas são facilmente transportadas pelo vento (Varennnes, 2007).

Este elemento é utilizado em conservantes da madeira, detergentes e ligas metálicas (Varennnes, 2003). Alguns pesticidas incluem arsénio na sua composição, tendo sido responsáveis pela contaminação continuada de vários solos agrícolas. Na realidade os compostos de arsénio foram os primeiros a ser usados como pesticidas (Philp, 1995) existindo registos do seu uso desde a década de 60 do século XIX (Adriano, 1986). Em Portugal, o arseniato de chumbo foi um dos componentes de um insecticida inorgânico com arsénio que deixou de ser comercializado em 2002. No entanto, no ano de 2003 era ainda permitido o uso de um fungicida inorgânico de arsénio com arsenito de sódio na sua composição (Amaro, 2003).

Nos Estados Unidos da América a maior produção e consumo de arsénio ocorreu durante a década de 40 do século XX tendo deixado de ser produzido internamente a partir de 1986. Ainda assim, este elemento continuou a ser importado e a sua utilização apenas diminuiu a partir de 2004 (U.S. Geological Survey, 2007). Embora o consumo e utilização de arsénio tenha vindo a diminuir este metalóide continua presente em muitos compostos. Durante o século XIX a Grã-Bretanha era considerada a maior zona de produção mundial de arsénio (Harper e Miranda, 1990). Contudo, tal como nos E.U.A., a produção do elemento foi extinta na Grã-Bretanha e também na Suécia devido a questões ambientais e actualmente o maior produtor de arsénio é a China seguida pelo Chile (Reese, 1997).

A informação sobre a produção mundial de arsénio é relativamente escassa e por esta razão, a maioria dos dados disponíveis são valores estimados. Reese (1997) pesquisou alguns destes valores e concluiu que, naquele ano, a produção mundial total de arsénio (na forma de  $\text{As}_2\text{O}_3$ ) foi de 40 600 toneladas métricas – a produção nos vários países mostrou-se pouco variável entre 1993 e 1997. A China apresentou uma produção de 15 000 toneladas métricas e o Chile de 6 000 toneladas métricas. Aquele autor estima que em Portugal, no mesmo período de tempo, tenham sido produzidas 150 toneladas métricas de  $\text{As}_2\text{O}_3$  por ano.

### 3. EFEITOS DO ARSÊNIO NO SOLO, NAS PLANTAS E NOS SERES HUMANOS

#### 3.1 O Arsénio no Solo

##### 3.1.1 Comportamento e mobilidade do elemento

O arsénio é um elemento naturalmente presente na composição das rochas encontrando-se nos solos em concentrações de 0,5 a 35 mg kg<sup>-1</sup>, consoante o tipo de solo em questão (Řezanka e Sigler, 2008). Relativamente a este assunto é importante ter em consideração o fundo geoquímico de cada região ou país. Freedman (1995) define este conceito como a concentração de cada elemento presente naturalmente no ecossistema, isto é, sem ter sido produzido por fontes poluidoras (antrópicas ou naturais).

As formas móveis de arsénio mais comuns no solo são espécies aniónicas – AsO<sub>2</sub><sup>-</sup>, AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, HAsO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e H<sub>2</sub>AsO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Quanto às formas minerais deste elemento o autor refere a arsenopirite (FeAsS) como a mais representativa, embora 60% dos minerais de arsénio existentes no solo correspondam a arsenatos. Nos solos arenosos são encontradas as menores concentrações de arsénio, com tendência a aumentarem em solos limosos e destes para os argilosos (Kabata-Pendias & Pendias, 2001; Smith *et al.* 2006). Além da concentração total de arsénio no solo é importante considerar vários parâmetros para definir a fracção móvel e disponível do elemento, visto que será esta a potencial causa de riscos ambientais e/ou de saúde pública (Clemente *et al.*, 2008).

O grau de adsorção do arsénio num solo é influenciado pela constituição mineralógica do solo, pela presença de outros elementos químicos e pela especiação do elemento que, por sua vez, depende do pH e das condições redox do meio (Wang e Mulligan, 2006; Pfeifer *et al.*, 2007). Assim, a mobilização e a biodisponibilidade de arsénio no solo está fortemente relacionada com o seu teor e características da fracção argila, óxidos e hidróxidos de Fe, Al e Mn e matéria orgânica pois o elemento pode ser adsorvido a estes constituintes. Por esta razão, os solos arenosos são aqueles que apresentam teores mais baixos de arsénio principalmente quando são derivados de granitos. Devido à menor adsorção do elemento nestes solos pode ocorrer uma maior lixiviação de arsénio para as águas superficiais ou subterrâneas causando riscos para a saúde animal e humana (Kabata-Pendias & Pendias, 2001).

Como já foi referido anteriormente as condições redox do meio são determinantes para definir quais as formas assumidas pelo arsénio. Em condições oxidantes predominam os arsenatos enquanto que em condições redutoras estes são reduzidos a arsenitos, podendo também ser encontrado arsénio na sua forma elementar (Adriano, 1986). Como

exemplo pode referir-se a redução do arsenato de ferro a arsenito em ambientes alagados, devido à dissolução dos óxidos de ferro e manganês, aumentando a sua toxicidade (McBride, 1994; Varennes, 2003). O pH é outro factor importante na determinação da disponibilidade de arsénio no solo, visto que para baixos valores de pH os metais, principalmente os metais pesados, tendem a apresentar-se mais móveis devido à dissolução dos óxidos presentes em solução (Bauer e Blodau, 2006). A adsorção do arsénio nos óxidos de ferro é fortemente dependente da especiação do elemento e do pH do solo. Assim, para pH entre 4 e 7 o As(V) terá tendência a ser mais adsorvido nos óxidos de Fe, enquanto que para pH entre 7 e 10 o As(III) encontra-se mais fortemente adsorvido nos mesmos (Wang e Mulligan, 2006).

O comportamento do arsénio no solo é análogo ao do fósforo pois ambos os elementos apresentam semelhanças químicas, por exemplo, os dois formam compostos insolúveis com o Al, Fe e Ca e competem pelos mesmos locais de adsorção (Adriano, 1986). Assim, a adição de adubos fosfatados ao solo pode intensificar a toxicidade do arsénio pois os iões fosfato substituem o arsénio nos locais de adsorção aumentando a sua concentração na solução do solo (Varennes, 2003). O trabalho de Clemente *et al.* (2008) permitiu concluir que, em locais contaminados, o arsénio tende a deslocar-se para horizontes mais profundos, acumulando-se em maiores quantidades entre os 10 e os 30 cm de profundidade, onde estabelece ligações com os óxidos de ferro e de alumínio.

Os valores máximos admissíveis de arsénio no solo variam de acordo com o país, por exemplo, na China valores de arsénio até 30 mg kg<sup>-1</sup> são aceitáveis (Zeng *et al.*, 2008), enquanto que na maioria dos países Ocidentais, o valor máximo é de 20 mg kg<sup>-1</sup> (Environment Agency, 2002; Kissel *et al.*, 2003). No entanto, é importante referir que os valores limite de um contaminante no solo são variáveis. Torna-se necessário considerar o fundo geoquímico da região ou do país em questão, como já foi referido. Por outro lado, os valores limite de um elemento no solo também podem variar consoante o uso final que este terá. Ou seja, um solo agrícola terá valores limite, para um determinado elemento, mais baixos do que um solo cujo destino final será a construção, por exemplo, de uma urbanização (Environment Agency, 2002; Pinto, 2008). Devido à falta de legislação portuguesa sobre os limites de alguns elementos contaminantes no solo, entre eles o arsénio, são utilizados em Portugal os níveis adoptados por países como a Holanda e o Canadá – neste último o valor máximo admissível de arsénio no solo é de 12 mg kg<sup>-1</sup> (Sequeira e Coelho, 2006).

### 3.1.2 Efeitos do arsénio na actividade enzimática do solo

A actividade enzimática do solo começou a ser estudada no final do século XIX com uma maior relevância na Bélgica, Alemanha, França e Rússia. O primeiro estudo sobre enzimas do solo data do ano de 1899 e refere-se à peroxidase, uma enzima oxidante. Com o passar dos anos foram sendo descobertas e estudadas outras enzimas do solo como a catalase, a urease e a fosfatase (Melo, 1988).

As enzimas do solo podem provir de resíduos de origem vegetal ou animal (Yang *et al.*, 2008) ou de exsudados radiculares libertados pelas plantas, como a amilase e a fosfatase (Melo, 1988). Funcionam como catalisadores dos processos que ocorrem nos seres vivos e também dos ciclos minerais do solo (Araújo e Monteiro, 2007) e encontram-se associadas à fracção húmica da matéria orgânica (Bandick e Dick, 1999). De acordo com Melo (1988) a actividade enzimática é superior na rizosfera e depende do teor de matéria orgânica, das propriedades físicas do solo e dos microrganismos (Araújo e Monteiro, 2007). Tejada *et al.* (2008b) afirmam que o comportamento das enzimas é variável de acordo com a existência de elementos que possam actuar como inibidores e do tipo de cultura presente no local. Desta forma, é de prever que os aditivos aplicados ao solo influenciem a actividade enzimática. Vários autores como Saha *et al.* (2008), Tejada *et al.* (2008b) e Yang *et al.* (2008) referem o aumento da actividade de enzimas, como a fosfatase e a desidrogenase, devido à utilização de fertilizantes orgânicos contendo fósforo e potássio. Por outro lado, a actividade enzimática é, geralmente, afectada negativamente pela presença de elementos vestigiais no solo, particularmente se este se encontrar contaminado por vários metais e metalóides em simultâneo (Chaperon e Sauvé, 2007; Tejada *et al.*, 2008a).

Assim, a actividade enzimática é um parâmetro utilizado na determinação da qualidade ou fertilidade de um solo, através da análise de factores biológicos do mesmo (Bandick e Dick, 1999; Gil-Sotres *et al.*, 2005; Tejada *et al.*, 2008a). Isto porque as enzimas são reguladoras dos ciclos de Carbono ( $\beta$ -glicosidase), Azoto (urease, amidase e protease), Fósforo (fosfatase ácida e alcalina) e Enxofre (arilsulfatase) (Araújo e Monteiro, 2007). Assim, os factores biológicos podem ser divididos, de acordo com Gil-Sotres *et al.* (2005), em dois grupos: o primeiro é referente à biomassa microbiana, à actividade da desidrogenase e à taxa de mineralização de azoto, enquanto que o segundo efectua a análise de enzimas como a fosfatase, a urease e a  $\beta$ -glucosidase.

A desidrogenase caracteriza-se por ser uma enzima endocelular pois existe apenas no interior de células vivas (Chaperon e Sauvé, 2007). Alguns estudos, como os efectuados por Gil-Sotres *et al.* (2005) e Tejada *et al.* (2008b) mostram que a actividade da desidrogenase é variável de acordo com os compostos aplicados ao solo por a enzima estar relacionada com a actividade dos microrganismos. Os autores referem que a actividade



desta enzima pode aumentar devido à aplicação de fertilizantes orgânicos ao solo e só é afectada pela presença de metais pesados quando estes se encontram no meio em doses elevadas. A actividade da fosfatase apresenta um comportamento semelhante à desidrogenase pois também aumenta com a adição de matéria orgânica ao solo (Saha *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2008). Bandick e Dick (1999) referem que as variações no pH são um factor de alteração no comportamento da fosfatase.

Através das propriedades biológicas do solo, torna-se também possível determinar o efeito dos contaminantes no mesmo. O trabalho de Lorenz *et al.*, em 2006, sugere que o arsénio parece não provocar efeitos negativos em algumas enzimas, como é o caso da urease, ao passo que diminui a actividade da fosfatase, provavelmente devido à competição verificada entre o arsénio e o fósforo. Kumpiene *et al.* (2006) verificaram que a actividade de várias enzimas, entre elas a fosfatase, é menor num solo contaminado com arsénio, crómio e cobre do que no mesmo solo depois deste sofrer um tratamento com ferro metálico ( $\text{Fe}^0$ ). Após o tratamento, os investigadores verificaram que, dos três elementos, a fracção de arsénio foi a mais reduzida devido aos efeitos do ferro. Desta forma, é possível assumir que o arsénio pode actuar como um inibidor da actividade enzimática, como já havia sido referido por Kabata-Pendias & Pendias (2001).

### 3.2 O Arsénio nas Plantas

As plantas reagem de formas diferentes consoante a espécie às condições de *stress*, tais como a presença de elementos contaminantes no solo, como o arsénio, devido às suas diferenças fenotípicas (Meharg e Hartley-Whitaker, 2002). Algumas plantas apresentam vários sintomas podendo até morrer, enquanto outras, dispõem de estratégias que lhes permitem adaptarem-se às diferentes condições do meio (Hartley e Lepp, 2008). Relativamente ao arsénio, a maioria das plantas tolera concentrações do metalóide no solo entre 1 a 50 mg kg<sup>-1</sup> (Kabata-Pendias & Pendias, 2001; Mascher *et al.*, 2002).

Os elementos químicos existentes na solução do solo são absorvidos pelas raízes das plantas de acordo com a sua concentração e a sua disponibilidade. Após a sua absorção os elementos podem ser translocados no interior da planta ou podem ficar retidos nas raízes como acontece com alguns elementos vestigiais (McBride, 1994). A absorção de arsénio pelas plantas depende de vários parâmetros variando, logo à partida, de espécie para espécie. Também depende da presença de vários elementos no solo que, como já referido anteriormente, afectam a biodisponibilidade do arsénio – por formação de compostos insolúveis ou por competição – e, portanto a sua concentração na solução do solo (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997; Hartley e Lepp, 2008).

Se a concentração de arsénio disponível no solo for elevada a maioria das espécies é afectada pela sua toxicidade ao nível do metabolismo vegetal pois o elemento actua negativamente sobre o normal crescimento e desenvolvimento das plantas (Rahman *et al.*, 2007). Os sintomas mais comuns associados à fitotoxicidade do arsénio são: menor taxa de germinação (Abedin e Meharg, 2002), redução no crescimento, quer das raízes (Kabata-Pendias & Pendias, 2001; Abedin e Meharg, 2002), quer da parte aérea com diminuição da altura das plantas (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1995), menor produção de frutos e grãos (Rahman *et al.*, 2007) e, por outro lado, coloração violácea e murchidão das folhas e descoloração das raízes (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). O arsénio tende a concentrar-se maioritariamente nas raízes das plantas e nas folhas mais velhas (Kabata-Pendias & Pendias, 2001) encontrando-se em menores concentrações nas folhas mais novas e caules e em concentrações ainda mais baixas nas sementes e frutos (Hartley e Lepp, 2008). Carbonell-Barrachina *et al.* (1997) concluíram que consoante a espécie de planta a absorção, translocação e armazenamento de arsénio será diferente, bem como a sua reacção à toxicidade do elemento.

No entanto, existem culturas aparentemente tolerantes aos efeitos fitotóxicos do arsénio mesmo quando este se encontra presente em concentrações relativamente altas no solo, e alguns autores pensam que essa resistência se deve a três processos analisados em seguida. A diminuição de absorção do elemento pode ser devida a modificações nos mecanismos de transporte de fósforo/arsénio visto que o metalóide entra nas plantas pela via de transporte do fósforo nas raízes (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997; Meharg e Hartley-Whitaker, 2002). Se as necessidades da planta em fósforo forem satisfeitas o funcionamento deste mecanismo é reduzido impedindo a assimilação de arsénio (Burló *et al.*, 1999). Contudo, uma vez no interior da planta, existem espécies capazes de metabolizar o arsénio de modo a que este assuma formas menos tóxicas e seja possível à planta o seu armazenamento sem apresentar sintomas de fitotoxicidade (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997; Meharg e Hartley-Whitaker, 2002). Esta estratégia foi aprofundada por Tripathi *et al.* em 2007, e os investigadores concluíram que consiste na redução de arsenatos a arsenitos no metabolismo destas espécies e na sua acumulação nos vacúolos das plantas. Por fim, a capacidade de tolerância ao arsénio pode ainda estar relacionada com processos evolutivos em que as plantas tenham desenvolvido caminhos preferenciais ou adaptações enzimáticas de modo a tolerar a presença de arsénio no seu interior (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997; Meharg e Hartley-Whitaker, 2002).

Existem várias plantas que apresentam a capacidade de resistir aos efeitos fitotóxicos do arsénio como é o caso da gramínea *Holcus lanatus* (Meharg e Mcnair, 1990) e da giesta amarela (*Cytisus striatus*) (Tripathi *et al.*, 2007) que aumentam a absorção de fósforo, inibindo assim, a absorção de arsénio. Algumas plantas aquáticas (Tripathi *et al.*,

2007) e árvores como o cedro (*Tamarix parviflora*) e o eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*) (Alkorta *et al.*, 2004) também apresentam resistência ao metalóide. Por outro lado, existem plantas como a *Pteris vittata* que funcionam como hiperacumuladores de arsénio, isto é, têm a capacidade de armazenar e metabolizar o metalóide de forma a tolerar os seus efeitos negativos e a aumentar o seu desenvolvimento devido à presença do arsénio. Segundo Ma *et al.* (2001) e Alkorta *et al.* (2004) a *P. vittata* efectua a translocação da maioria do arsénio que absorve das raízes para a parte aérea aumentando o seu crescimento e biomassa quando o elemento está presente no solo em concentrações relativamente baixas.

Quanto aos efeitos negativos do arsénio, o arroz é uma das culturas que poderá ser mais afectada pelo elemento visto desenvolver-se em condições redutoras que podem levar à redução do arsénio passando este à sua forma mais tóxica de arsenito (Adriano, 1986). Elevadas concentrações do elemento no solo estão relacionadas com a diminuição da altura das plantas e com menor produção de biomassa (Rahman *et al.*, 2007). O feijão demonstra o mesmo comportamento na presença de arsénio, além da diminuição do teor em clorofila e proteínas (Stoeva *et al.*, 2005). As espécies mais propícias à acumulação de arsénio quando este se encontra disponível para absorção são as espécies mais folhosas como é o caso da alface (Bunzl *et al.*, 2001), da batata e do tomate (Farid *et al.*, 2003). No entanto, a sensibilidade ao elemento não é maior nas plantas que absorvem maiores teores de arsénio. Assim, o feijão, cebola, ervilha e pepino são mais afectadas enquanto que o tomate, a batata, a cenoura e o tabaco são algumas das espécies menos sensíveis aos efeitos negativos do arsénio (Adriano, 1986; Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997).

Num estudo realizado com feijão, espinafre e alface num solo contaminado Willner (2007) concluiu que estas hortícolas apresentam arsénio nas raízes e nas folhas, com uma maior concentração nas raízes devido à maior interacção com o solo e à absorção directa. Este autor afirma que, dependendo da espécie vegetal e dos nutrientes existentes no meio, a distribuição, concentração e especiação de arsénio nas plantas será variável.

### 3.2.1 Importância da cultura de Tomateiro

Alguns estudos afirmam que o tomate será originário da Bolívia e do Perú tendo sido posteriormente levado para o sul do México pelos Incas. Com a chegada dos conquistadores espanhóis à América Central e à América do Sul deu-se a expansão desta cultura pelos mercados Europeus visto ser uma planta que se adapta facilmente a diferentes tipos de climas e solos. Contudo, apenas no início do século XIX começou a ser largamente utilizada pelos Europeus na dieta alimentar (Padovani, 1989).

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) pertence à família *Solanaceae* e é uma planta perene de cultura anual que pode atingir os dois metros de altura. O caule e as folhas

da planta são cobertos de pêlos e apresentam um odor forte e característico. As folhas, dentadas, estão dispostas no caule de forma alternada e o seu comprimento varia entre os 15 e os 45 cm. As flores são hermafroditas, de coloração amarela e ocorrem na forma de cachos, em número de três a sete. Os frutos apresentam segmentos interiores carnudos repletos de sementes envoltas por uma matriz aquosa. As raízes são ramificadas e só as partes finas e pilosas conseguem atingir as zonas mais profundas do solo (Padovani, 1989).

O tomateiro apresenta um crescimento rápido, entre 90 a 150 dias, para temperaturas diurnas ótimas de 18 a 25 °C e temperaturas noturnas entre os 10 e os 20 °C. É uma cultura de fácil adaptação mas muito sensível a temperaturas baixas e a temperaturas superiores a 25 °C quando acompanhadas por altas humidades e ventos fortes. Por outro lado, temperaturas superiores a 20 °C, humidades altas e um baixo fotoperíodo produzem um desenvolvimento excessivo da parte vegetal e muito baixa produção de frutos. Humidades relativas do ar elevadas aumentam a probabilidade de aparecimento de doenças, pelo que, a cultura apresenta melhores produções em climas secos ([http://www.fao.org/nr/water/cropinfo\\_tomato.htm](http://www.fao.org/nr/water/cropinfo_tomato.htm)).

O tomateiro adapta-se a uma grande variedade de solos, de preferência solos com boa drenagem e com pH entre 5 e 7. A salinidade do solo é outro factor importante, principalmente, nas fases de germinação e crescimento inicial das plântulas, visto ser uma cultura moderadamente sensível a concentrações elevadas de sais. Os valores de fertilização aconselhados para a cultura do tomate são de 100 a 150 kg N ha<sup>-1</sup>, 65 a 110 kg P ha<sup>-1</sup> e 160 a 240 kg K ha<sup>-1</sup> ([http://www.fao.org/nr/water/cropinfo\\_tomato.htm](http://www.fao.org/nr/water/cropinfo_tomato.htm)).

O tomate é um fruto muito utilizado na dieta alimentar mundial e existe numa grande variedade de tamanhos, formas e cores. Relativamente à sua composição nutricional apresenta um baixo valor energético e reduzido teor em hidratos de carbono pois 94% do seu peso corresponde a água. É rico em potássio, sódio, magnésio e vitamina C, além de ser uma boa fonte de ácido fólico e carotenos como o licopeno que confere a cor vermelha ao tomate (<http://www.nestle.pt/bemestar/presentation/nutricao/Alimentos.aspx?id=226>).

A seguir à batata o tomate é a hortícola mais importante a nível mundial atingindo valores de produção anual de 10 milhões de toneladas de frutos provenientes de cerca de 3,7 milhões de hectares de solo ([http://www.fao.org/nr/water/cropinfo\\_tomato.htm](http://www.fao.org/nr/water/cropinfo_tomato.htm)). Actualmente, os principais produtores mundiais de tomate são a China e os E.U.A. (Carvalho e Pagliuca, 2007). Portugal encontra-se no sexto lugar, sendo a maioria da produção (93%) exportada para a União Europeia, Japão e Médio Oriente (<http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2007/05/30f.htm>).

O efeito tóxico mais evidente causado pelo arsénio no tomateiro refere-se ao seu crescimento, que será tanto menor, quanto maior a concentração de arsénio no meio (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997; Burló *et al.*, 1999; Miteva *et al.*, 2005; Akhter *et al.*, 2006).

Tlustoš *et al.* (2006) observaram que a concentração de arsénio no tomateiro tende a seguir o comportamento de várias outras espécies. Isto é, existe uma maior acumulação nas raízes, com tendência a diminuir nas folhas e caule, ocorrendo os valores mais baixos nos frutos. Desta forma é de prever que, embora a formação de biomassa de toda a planta seja diminuída, as raízes são as mais afectadas com redução de peso e comprimento (Miteva *et al.*, 2005). Com raízes mais pequenas também a parte aérea acaba por ter um menor crescimento tornando-se mais frágil.

Quando o teor em arsénio se torna demasiado tóxico para as membranas radiculares, estas deixam de funcionar normalmente e o transporte para a parte aérea cessa embora não se verifiquem cloroses ou necroses nas raízes (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997). Estes autores referem que a falta de efeitos tóxicos visualmente identificáveis se deve a uma possível compartimentalização do arsénio nas células radiculares.

### 3.1.2 Importância da Cultura da Salsa

A salsa (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nymen) é uma planta aromática que tem sido largamente usada na alimentação e na medicina tradicional (Almeida, 2006). Existem registos de utilização da salsa como planta medicinal ao longo dos séculos, do século I d.C. por Plínio, e anteriormente pelos egípcios e gregos, até aos dias de hoje (Botelho, 2006). Enquanto as folhas de salsa são maioritariamente utilizadas como tempero e condimento, o óleo extraído das suas sementes é largamente usado no fabrico de perfumes, sabonetes e cremes (Simon *et al.*, s/d).

A salsa é uma espécie pertencente à família Apiaceae (*Umbelliferae*) e é originária do Sul da Europa ou da Ásia Ocidental segundo alguns autores (Simon *et al.*, s/d). Trata-se de uma espécie bi-anual, vivaz, de caule erecto e folhas compostas dentadas e aromáticas podendo atingir entre 30 a 75 cm de altura (Almeida, 2006). As condições óptimas de germinação passam por climas quentes, com muitas horas de sol e um solo húmido com boa drenagem e pH entre 5,3 a 7,3. Relativamente à sua composição nutricional, apresenta óleos essenciais, cânfora-de-salsa, flavonóides, pectina, elevado teor em clorofila, vitamina A, B, C e E, ácido fólico, ferro, cobre, cálcio e fósforo (Botelho, 2006; Simon *et al.*, s/d).

Já em 1939, Rowson e Waterhouse tinham concluído que a salsa pode conter grandes quantidades de arsénio, facto apoiado por Hanson (1945). Mais recentemente, Bronkowska *et al.* (2008) mostraram que a salsa, ao crescer em locais contaminados com arsénio, absorve o elemento translocando-o para a parte aérea.

### 3.3 O Arsénio nos Seres Humanos

Como já foi referido anteriormente, o arsénio pode estar presente no ambiente em formas móveis, encontrando-se biodisponível para as plantas ou podendo sofrer lixiviação do solo para águas superficiais e/ou subterrâneas. Em ambos os casos existe o risco da sua entrada na cadeia alimentar dos seres humanos podendo actuar como uma fonte de problemas de saúde e mesmo levar à morte devido à sua toxicidade.

A ingestão de águas contaminadas é a forma mais comum de envenenamento com este elemento (Alkorta *et al.*, 2004) tratando-se de um problema que afecta várias zonas do Mundo. Os países mais afectados são o Bangladesh e a Índia onde a população é geralmente abastecida a partir de poços cujas águas estão contaminadas com arsénio devido à oxidação dos sulfuretos presentes nas rochas da região (Rahman *et al.*, 2007). As rochas nestes dois países apresentam elevados teores de arsénio na forma de sais insolúveis e a abertura de poços, pode levar à contaminação das águas com o metalóide (Philp, 1995; Bourguerra, 1997) com concentrações que atingem os  $1\,000\ \mu\text{g As L}^{-1}$  (Meharg e Hartley-Whitaker, 2002).

É importante referir que a Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu como limite de segurança um valor máximo de  $10\ \mu\text{g L}^{-1}$  de arsénio nas águas para consumo (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs210/en/index.html>). Em Portugal foi também adoptado este valor como limite de segurança (Decreto-Lei n.º 72/2004 de 25/03/2004) ([http://www.diramb.gov.pt/data/basedoc/TXT\\_LN\\_26350\\_1\\_0001.htm#b0003](http://www.diramb.gov.pt/data/basedoc/TXT_LN_26350_1_0001.htm#b0003)). Apenas como base de comparação é de registar que, quando não contaminada por arsénio, a água do mar apresenta  $3,7\ \mu\text{g L}^{-1}$  deste elemento e a água doce  $0,5\ \mu\text{g L}^{-1}$  o que demonstra a extensão do problema de contaminação das águas (Freedman, 1995).

No que diz respeito à ingestão de arsénio por via de plantas contaminadas é importante considerar duas vias. Através do consumo directo de cereais, vegetais ou frutos que cresçam em solos contaminados, ou sejam regados com águas que contenham arsénio em excesso, e também no consumo de carne e leite. Vários autores alertam para o facto do elemento poder concentrar-se na carne de gado alimentado com restos da cultura de arroz ou que bebe águas de poços localizados em zonas contaminadas (Rahman *et al.*, 2008a; Smith *et al.*, 2008). A OMS fixou o valor de  $0,8\ \mu\text{g As kg}^{-1}$  diário como a dose de referência para a qual não são observados efeitos adversos no homem em caso de toxicidade oral ([http://www.euro.who.int/document/aig/6\\_1\\_arsenic.pdf](http://www.euro.who.int/document/aig/6_1_arsenic.pdf)).

Existe ainda a possibilidade de assimilação de arsénio através da inalação de partículas suspensas na atmosfera derivadas de fontes antrópicas de poluição (Varennnes, 2007) já que as vias respiratórias, juntamente com o sistema gastrointestinal, são as duas vias de entrada preferenciais de compostos de arsénio no ser humano (Bronkowska *et al.*,

2008). Por esta razão, existem inúmeros casos – comprovadamente relacionados com a presença de arsénio – de cancro de pulmão junto de zonas industriais e também de cancro de pele com hiperpigmentação, conhecido como doença dos pés pretos, ou queratose (Warren e Alloway, 2003; Varennes, 2007). A presença de arsénio pode também levar ao desenvolvimento de outros tipos de cancro (Jeong *et al.*, 2007), diminuir a capacidade reprodutiva, causar náuseas e quando em teores excessivos, alucinações e demência (Bronkowska *et al.*, 2008).

#### **4. EFEITO DE ADITIVOS NO COMPORTAMENTO DO ARSÉNIO NO SISTEMA SOLO – PLANTA**

A incorporação de aditivos a um solo contaminado pode ser benéfica em várias situações no sentido de imobilizar os elementos contaminantes. Os aditivos irão modificar o comportamento dos mesmos condicionando a sua mobilização/imobilização e possível lixiviação, bem como, a sua biodisponibilidade para as plantas (Wang e Mulligan, 2006; Hartley e Lepp, 2008). Desta forma, alguns aditivos, podem diminuir a toxicidade de um determinado contaminante permitindo, assim, a regeneração florística de locais abandonados e degradados, tais como áreas mineiras desactivadas. De seguida será focado o efeito de alguns aditivos sobre o arsénio.

##### **4.1 Óxidos e oxi-hidróxidos de ferro**

Os óxidos e oxi-hidróxidos de ferro são as principais fases sólidas que adsorvem o arsénio no solo, especialmente quando este se encontra na forma de arsenatos (Rahman *et al.*, 2008b), contribuindo para a sua imobilização. O processo de adsorção é rápido com tendência a diminuir com o passar do tempo (Bauer e Blodau, 2006). De facto, Smith *et al.* (2006) afirmam que a concentração de arsénio no solo varia da mesma forma que a concentração de óxidos de ferro.

Em condições de pH neutras ou relativamente ácidas a presença de oxi-hidróxidos de ferro pode até diminuir a concentração de arsénio em águas resultantes da exploração mineira devido à formação de precipitados de arsenato de ferro (Wang e Mulligan, 2006). Este é um processo comum na remoção de arsénio de águas subterrâneas e Jeong *et al.* (2007), mostraram que os óxidos de ferro são eficazes na imobilização rápida do arsénio em águas contaminadas, principalmente a pH 6. O valor de pH tem um papel importante na retenção do arsenato nos óxidos de ferro, como a goethite.

Wang e Mulligan (2006) referem que a presença de óxidos de ferro pode levar à diminuição do processo de redução do arsénio o que diminui a toxicidade do elemento. Os mesmos autores afirmam que o arsénio sofre um processo de co-precipitação com o ferro levando à sua imobilização nos hidróxidos de ferro. No mesmo estudo é ainda indicado que, à medida que a razão Fe/As aumenta, a mobilidade do arsénio diminui sendo importante a presença de oxigénio no meio e um pH entre 4 e 7 para manter o metalóide imóvel.

Tal como no solo, nalgumas espécies de plantas a concentração de arsénio e ferro é proporcional (Rahman *et al.*, 2008c) e de acordo com Hartley e Lepp (2008) a presença de óxidos de ferro, além de reduzir a biodisponibilidade de arsénio no solo, também é benéfica para o crescimento das plantas. Estes autores concluíram que a goethite, numa concentração de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ , é um dos aditivos que demonstra melhores resultados na diminuição do teor de arsénio na parte aérea das plantas. Ainda relativamente à presença de goethite, Vetterlein *et al.* (2007) mostraram que não só a absorção de arsénio pelas plantas é reduzida, como também a assimilação de fósforo pois ambos os elementos ficam retidos no substrato. Por esta razão, os investigadores concluíram que este aditivo deve ser utilizado em pequenas concentrações para não interferir com a nutrição das plantas.

## 4.2 Matéria orgânica

A matéria orgânica é um dos constituintes mais importantes do solo pois influencia a sua estrutura, capacidade de troca catiónica e de retenção de água. A fracção activa da matéria orgânica do solo é designada por húmus e corresponde à fracção mais resistente à decomposição. Apresenta uma cor escura, natureza heterogénea e propriedades coloidais e é constituído por três fracções – os ácidos húmicos, os ácidos fúlvicos e a humina (Costa, 2004). À medida que o pH do solo sobe existe uma tendência para o teor de matéria orgânica também aumentar (McBride, 1994). Häni (1994) sustenta que a presença de matéria orgânica num solo é benéfica no combate à erosão pois, ao promover a agregação das partículas constituintes do solo gera um menor arrastamento das mesmas. Este autor refere ainda o aumento da capacidade de troca catiónica do solo devido ao teor de matéria orgânica pois que esta possui maioritariamente locais de carga negativa. Desta forma, a presença deste constituinte no solo deveria ser propícia à imobilização de alguns contaminantes, nomeadamente, quando estes apresentam carga positiva.

Em solos ricos em matéria orgânica os iões metálicos presentes na superfície dos minerais ligam-se à matéria orgânica do solo formando complexos estáveis. Desta forma, o arsénio não consegue estabelecer ligações com a superfície dos óxidos e oxi-hidróxidos de ferro tornando-se mais móvel no solo (Bauer e Blodau, 2006; Wang e Mulligan, 2006).



### 4.3 Fosfatos

O fósforo é um macronutriente essencial ao desenvolvimento das plantas estando envolvido em vários processos metabólicos como o processo fotossintético, mais concretamente a formação de ATP, a fixação de azoto ou o desenvolvimento radicular (Bosch e Wolfe, 1999). Quando o teor em fósforo é um factor limitante existe a tendência para um maior desenvolvimento das raízes (Geng *et al.*, 2006).

Tal como o arsénio o fósforo também se encontra adsorvido na superfície de óxidos e oxi-hidróxidos de ferro e alumínio apresentando, por isso, baixa mobilidade no solo (Naylor *et al.*, 1996; Bosch e Wolfe, 1999). Assim, o comportamento dos dois elementos no solo, nomeadamente, os processos de adsorção/dessorção serão semelhantes (Zeng *et al.*, 2008). Estes autores concluíram que o fósforo se encontra mais adsorvido nos óxidos e oxi-hidróxidos de ferro e alumínio do que o arsénio, pois os iões fosfato apresentam a capacidade de substituírem o arsénio nos locais de adsorção do solo. É então possível depreender que a presença de iões fosfato aumenta a mobilidade do arsénio nos solos e a sua biodisponibilidade para as plantas (Grossl *et al.*, 2004). Contudo, o contrário também pode acontecer se a concentração de arsénio no solo for baixa, ou seja, o fosfato pode tornar-se mais disponível para as plantas contribuindo para o seu crescimento (Rahman *et al.*, 2007).

Para além de competirem pelos mesmos locais de adsorção no solo, estes dois elementos competem também no processo de absorção pelas plantas. Segundo vários autores (Naylor *et al.*, 1996; Meharg e Hartley-Whitaker, 2002; Bai *et al.*, 2008) ambos os elementos são absorvidos pelos mecanismos de transporte de fósforo podendo a presença de arsénio interferir na nutrição das plantas relativamente a este macronutriente. Smith *et al.* (2008) sugerem que o fósforo é um elemento importante na retenção de arsénio nas raízes e na diminuição da sua translocação para a parte aérea. Tal como no solo também os sistemas de transporte das plantas apresentam maior afinidade relativamente ao fósforo em comparação com o arsénio (Meharg e Macnair, 1990).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram utilizados dois solos distintos. O solo em estudo, contaminado com arsénio, foi colhido nas imediações da mina de Santo António, em Penedono, ao qual foram efectuados cinco tratamentos com diferentes aditivos. Para comparação dos resultados obtidos, utilizou-se um solo não contaminado colhido na zona de Pegões. Na determinação dos efeitos do arsénio em hortícolas foram usadas plantas de tomateiro e salsa. A caracterização dos solos utilizados bem como das análises e medições realizadas ao solo e às plantas são descritas neste capítulo.

### 1. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DO SOLO EM ESTUDO

O complexo mineiro de Santo António, com uma área de cerca de 205 km<sup>2</sup> (Saywell, 2007), encontra-se, aproximadamente, a 60 km a norte de Viseu no concelho de Penedono (Fig. 1) estando geograficamente situado à latitude 41°1' N e longitude 7°24' W.

A extracção de ouro realizava-se a partir de filões de quartzo que cortam o maciço granítico da região de Penedono-Tabuaço encontrando-se os depósitos auríferos, na sua maioria, na forma de sulfuretos resultantes da associação de vários elementos como o arsénio, ouro, cobre, zinco e cádmio, entre outros (Abreu *et al.*, 2007).

Relativamente à caracterização climática, trata-se de uma zona com verões relativamente quentes e invernos frios e muito húmidos. Na estação meteorológica de Moimenta da Beira (40° 59' N; 7° 38' W), a cerca de 20 km de Penedono, no período entre 1955-1980, a temperatura média anual foi de 11,1 °C (variando de 18,6 °C em Julho a 4,6 °C em Dezembro) e a precipitação anual de 1061,1 mm (sendo o período mais chuvoso de Novembro a Março de 714,9 mm, correspondente a 67% do valor anual) (Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica, 1990).

As águas pluviais são, em parte escoadas da zona mineira através da ribeira da Granja, enquanto que outra parte se infiltra no solo formando um aquífero superficial que abastece nascentes e poços na zona. Ao longo da área mineira e junto da ribeira existem zonas de cultivo de hortícolas para consumo local. Em termos de vegetação predomina na área o castanheiro (*Castanea sativa* Mill.), o pinheiro (*Pinus pinaster* Ait.) e o carvalho (*Quercus pyrenaica* Willd.) e espécies arbustivas como a giesta branca (*Cytisus multiflorus* Ait.), a giesta amarela (*Cytisus striatus* (Hill) Rothm.), a urze (*Erica lusitanica* Rudolphi) e a caldoneira (*Echinopartum ibericum* Rivas Mart., Sánchez Mata et Sancho) (Abreu *et al.*,

2007). Os solos existentes no local onde está instalada a mina são originários de produtos de meteorização de granitos, de coluviões ou de aluviões, apresentando-se pouco evoluídos e pouco profundos. Nesta área são dominantes os Regossolos, encontrando-se associados a estes, nalgumas zonas, Umbrissolos (Classificação F.A.O.) (Abreu *et al.*, 2007).



**Figura 1** – Em pormenor, o Distrito de Viseu, onde se encontra a vila de Penedono, com a localização aproximada da Mina de Santo António.

### 1.1 Características dos solos e tratamentos efectuados

Através da análise granulométrica realizada ao solo de Penedono seleccionado para este estudo determinaram-se os seus teores em areia grossa ( $27,90 \text{ g kg}^{-1}$ ), areia fina ( $57,12 \text{ g kg}^{-1}$ ), limo ( $9,43 \text{ g kg}^{-1}$ ) e argila ( $5,55 \text{ g kg}^{-1}$ ) o que permitiu classificar a sua textura como arenosa-franca de acordo com a escala de Atterberg (Costa, 2004). Trata-se de um solo de carácter ácido (Varennnes, 2003) e relativamente ao seu teor de carbono orgânico é considerado médio (Manual de Fertilização das Culturas, 2000). O solo de Penedono apresenta teores em fósforo e potássio assimiláveis muito altos (Égner-Riehm, 1960) e encontra-se contaminado por arsénio (Quadro 1). A concentração total deste elemento no solo é de  $1170 \text{ mg kg}^{-1}$  e nesta área mineira Matias *et al.* (2003) e Abreu *et al.* (2007) identificaram o arsénio como o elemento presente nas escombreyas com maior susceptibilidade de causar impactos ambientais negativos.

Como controlo, foi usado no ensaio um solo não contaminado colhido na região de Pegões. Este solo apresenta textura arenosa pois contém  $94,4 \text{ g kg}^{-1}$  de areia,  $5,2 \text{ g kg}^{-1}$  de limo e  $0,4 \text{ g kg}^{-1}$  de argila. O pH do solo é ácido e os teores em carbono orgânico, fósforo e potássio são baixos (Égner-Riehm, 1960; Manual de Fertilização das Culturas, 2000; Varennnes, 2003).

**Quadro 1** – Principais características do solo de Penedono anteriormente à colocação dos aditivos e do solo de Pegões

Parâmetro	Método	Solo de Penedono	Solo de Pegões
pH (H <sub>2</sub> O)	Póvoas e Barral (1992) <sup>1</sup>	4,96	5,4
C <sub>ORGÂNICO</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	Tinsley (1956) <sup>1</sup>	17,03	5,8
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	Egner- Riehm (1960) <sup>1</sup>	208,5	48
K <sub>2</sub> O (mg kg <sup>-1</sup> )	Egner- Riehm (1960) <sup>1</sup>	210,5	50
N <sub>MINERAL</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	Keeney & Nelson (1982) <sup>1</sup>	12,35	-
Arsénio Total (mg kg <sup>-1</sup> )	ActLabs (2006) <sup>2</sup>	1170	20,6
Cádmio Total (mg kg <sup>-1</sup> )	ActLabs (2006) <sup>2</sup>	0,3	0,4
Crómio Total (mg kg <sup>-1</sup> )	ActLabs (2006) <sup>2</sup>	12	12
Cobre Total (mg kg <sup>-1</sup> )	ActLabs (2006) <sup>2</sup>	29	101
Manganês Total (mg kg <sup>-1</sup> )	ActLabs (2006) <sup>2</sup>	212	26
Chumbo Total (mg kg <sup>-1</sup> )	ActLabs (2006) <sup>2</sup>	48	136
Zinco Total (mg kg <sup>-1</sup> )	ActLabs (2006) <sup>2</sup>	74	88

<sup>1</sup> Métodos usados no Instituto Superior de Agronomia (Anexo I)<sup>2</sup> Determinações realizadas nos Laboratórios ActLabs, Canadá (Anexo I)

Quanto à capacidade de troca catiónica do solo de Penedono, esta é classificada como muito baixa (Varenes, 2003). Os teores relativos à capacidade de troca catiónica e aos catiões de troca deste solo foram determinados pelo método do acetato de amónio (Póvoas e Barral, 1992) e encontram-se no Quadro 2.

**Quadro 2** – Capacidade de troca catiónica (CTC), catiões de troca (Ca, Mg, K, Na), soma dos catiões de troca (S) e percentagem de saturação dos locais de troca (V) do solo de Penedono anteriormente à colocação dos aditivos

Ca	Mg	K	Na	S	CTC	V
cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>						(%)
0,53	0,12	0,28	0,01	0,94	4,92	19,2

Ao solo de Penedono foram misturados três aditivos: óxidos de ferro (goethite sintetizada) em duas concentrações – 1 g kg<sup>-1</sup> (Fe<sub>1</sub>) e 3 g kg<sup>-1</sup> (Fe<sub>3</sub>); matéria orgânica compostada – 35 g kg<sup>-1</sup> (MO); e, fosfatos de cálcio também em duas concentrações – 4 g kg<sup>-1</sup> (PCa<sub>4</sub>) e 12 g kg<sup>-1</sup> (PCa<sub>12</sub>), correspondendo a tratamentos distintos. As alterações nas principais características do solo após a mistura dos aditivos são apresentadas nos Quadros 3 e 4 (a determinação da fracção disponível de As foi realizada no Laboratório Central de Análises da Universidade de Aveiro após extracção com uma solução de CaCl<sub>2</sub> nos

Laboratórios de Química da mesma Universidade). Foram ainda utilizados dois controlos, um de solo contaminado de Penedono ( $C_{\text{PENEDONO}}$ ) e outro de solo não contaminado de Pegões ( $C_{\text{PEGÕES}}$ ).

A síntese da goethite foi realizada no Instituto Superior de Agronomia a partir de uma solução de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  seguindo a metodologia descrita por Schwertmann e Cornell (1991) (Anexo I) e a síntese dos fosfatos de cálcio foi efectuada na Universidade de Aveiro a partir da dissolução de um adubo fosfatado. A matéria orgânica adicionada ao solo de Penedono apresentava na sua constituição os seguintes elementos nos teores respectivos: Cu ( $37 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Mn ( $127 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Pb ( $62 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Zn ( $144 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Cr ( $21 \text{ mg kg}^{-1}$ ), As ( $36 \text{ mg kg}^{-1}$ ), P ( $7,25 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e Fe ( $3,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Estes elementos foram determinados nos Laboratórios ActLabs (2006) após digestão com quatro ácidos. Após a mistura dos aditivos o solo foi mantido em incubação durante um período de 17 meses tendo sido regado de modo a manter uma capacidade máxima de retenção de água de 70%.

**Quadro 3** – Principais características do solo de Penedono após a colocação dos aditivos e respectiva incubação de 17 meses (fracção disponível de arsénio extraída com cloreto de cálcio)

	pH	$C_{\text{ORGÂNICO}}$ ( $\text{g kg}^{-1}$ )	$N_{\text{MINERAL}}$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	$\text{P}_2\text{O}_5$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	$\text{K}_2\text{O}$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	As disponível ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
$\text{Fe}_1$	4,31	19,14	60,81	180,8	144,0	12,1
$\text{Fe}_3$	4,18	18,94	94,26	195,7	161,0	8,7
MO	5,19	23,41	365,08	448,3	1560,0	20,7
$\text{PCa}_4$	4,55	16,27	338,64	537,5	165,0	21,9
$\text{PCa}_{12}$	4,80	15,92	668,65	2063,0	169,0	41,3
$C_{\text{PENEDONO}}$	4,24	17,17	83,65	207,5	159,0	10,7

**Quadro 4** – Capacidade de troca catiónica (CTC), catiões de troca (Ca; Mg; K; Na), soma dos catiões de troca (S) e percentagem de saturação dos locais de troca (V) do solo de Penedono após a colocação dos aditivos

	Ca	Mg	K	Na	S	CTC	V
	(cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )						(%)
$\text{Fe}_1$	0,75	0,18	0,39	0,04	1,35	7,21	18,7
$\text{Fe}_3$	0,77	0,17	0,36	0,04	1,34	7,04	19,1
MO	4,37	1,24	3,27	0,38	9,25	9,10	saturado
$\text{PCa}_4$	3,25	0,19	0,36	0,21	4,02	7,81	51,5
$\text{PCa}_{12}$	6,57	0,19	0,34	0,50	7,60	9,34	81,3
$C_{\text{PENEDONO}}$	0,78	0,17	0,34	0,04	1,33	7,55	17,6

## 2. INSTALAÇÃO E DESCRIÇÃO DO ENSAIO

O ensaio experimental foi realizado, em ambiente controlado, no Horto da Química Agrícola Boaventura de Azevedo do Instituto Superior de Agronomia, de 25 Julho de 2007 a 25 de Fevereiro de 2008. A informação meteorológica relevante para a realização do ensaio durante o período de sementeira, transplante e desenvolvimento das plantas utilizadas encontra-se no Quadro 5 e refere-se ao período entre os meses de Outubro de 2007 e Fevereiro de 2008 (Estação meteorológica da Tapada da Ajuda, informação pessoal).

**Quadro 5** – Temperaturas médias (T média), máximas (T máx.) e mínimas (T min.), humidade relativa (HR) e período de insolação entre Outubro de 2007 e Fevereiro de 2008

	T média (°C)	T máx. (°C)	T min. (°C)	HR média (%)	Insolação média (h/dia)
Outubro	19,5	24,7	14,2	69	8,1
Novembro	15,6	20,4	10,8	63	7,2
Dezembro	11,7	15,3	8,1	79	4,9
Janeiro	13,4	17,0	9,7	86	4,6
Fevereiro	14,4	18,4	10,5	84	5,2

### 2.1 Preparação dos vasos

O início do ensaio deu-se a 25 de Julho de 2007 com a preparação do solo de Penedono que consistiu na sua homogeneização e colocação nos vasos. As quantidades de solo contaminado de Penedono utilizadas foram de 3 kg (solo com tomateiros) e de 1,4 kg (solo com salsa e solo nu) e do solo de Pegões utilizaram-se 4,5 kg (solo com tomateiros) e 2,5 kg (solo com salsa e solo nu). Todos os vasos foram regados ao longo do ensaio tendo sido mantida uma capacidade máxima de retenção de água de 70%. Os vasos (num total de 100) foram colocados em ambiente controlado. Para cada tratamento, solo nu e solo com plantas, foram efectuadas cinco repetições.

Em todos os vasos com solo de Penedono foi efectuada uma adubação superficial com a aplicação de 50 mg N kg<sup>-1</sup> solo (22 dias após o transplante dos tomateiros). Nos vasos contendo salsa foi ainda adicionada uma solução de sulfato de zinco 7H<sub>2</sub>O (4 g L<sup>-1</sup>) através de pulverização foliar 42 dias após a sementeira, de modo a satisfazer as necessidades em zinco das plantas. O solo de Pegões sofreu uma adubação de profundidade com 50 mg N kg<sup>-1</sup> de solo na forma de nitrato de amónio, 50 mg P kg<sup>-1</sup> de solo na forma de dihidrogenofosfato de amónio, 50 mg K kg<sup>-1</sup> de solo na forma de sulfato de potássio e 30 mg Mg kg<sup>-1</sup> de solo na forma de sulfato de magnésio. Foi ainda necessário aplicar o insecticida Décil (com concentração de 25 g L<sup>-1</sup>) às plantas de tomateiro 34 dias após o transplante para impedir a proliferação de insectos.

## 2.2 Material vegetal

No ensaio utilizaram-se plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) da variedade híbrida Elegy (APT 403) e salsa (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nymen).

A variedade Elegy é utilizada na indústria transformadora de tomate e caracteriza-se pela rápida maturação (entre 75 a 85 dias após transplante) das plantas e pela alta produtividade da sementeira. Trata-se de uma variedade de crescimento determinado cujos frutos apresentam uma forma alongada e peso médio de 75 g a 85 g. Os tomateiros Elegy são ainda resistentes a várias doenças (<http://www.semena.org/sort/tomato1/Toomat1-e.htm>).

A germinação das sementes de tomateiro ocorreu numa sala anexa do Horto, com um painel de lâmpadas fluorescentes e ar condicionado a uma temperatura de 22 °C. As sementes de tomate foram colocadas em alvéolos com vermiculite no dia 18 de Setembro de 2007. Foram utilizados três tabuleiros de plástico e 180 sementes de tomateiro efectuando-se o seu humedecimento todos os dias. As plântulas foram transplantadas para vasos 20 dias após a sementeira (DAS). Inicialmente foram colocadas quatro plântulas por vaso, no entanto, 28 dias após o transplante (DAT) foi efectuada uma colheita parcial da parte aérea das plantas tendo permanecido apenas duas plantas de tomateiro por vaso de modo a minimizar a competição entre si. O processo de floração dos tomateiros no controlo de solo de Pegões teve início a 50 DAT e nos tratamentos com fosfatos de cálcio e matéria orgânica a 62 DAT. Em C<sub>PEGÕES</sub> os primeiros frutos surgiram a 65 DAT e nos outros três tratamentos (MO, PCa<sub>4</sub> e PCa<sub>12</sub>) o processo de frutificação teve início a 90 DAT. As plantas dos tratamentos com óxidos de ferro (Fe<sub>1</sub> e Fe<sub>3</sub>) e C<sub>PENEDONO</sub> não atingiram a fase de floração.

Entre as variedades de salsa existentes, foi utilizada neste trabalho a *Petroselinum crispum* var. *latifolium* (Mill.) Nymen. Esta variedade é vulgarmente denominada por salsa comum ou salsa de folha lisa devido às características das suas folhas (Almeida, 2006).

No dia 2 de Outubro de 2007 procedeu-se à colocação das sementes de salsa nos vasos, tendo-se utilizado 30 sementes por vaso. Para favorecer a germinação, sobre o solo de Penedono foi colocada uma camada, com cerca de 100 mg, de solo de Pegões. As sementes de salsa foram colocadas nesta camada e posteriormente cobertas com mais 100 mg do mesmo solo. A sementeira foi seguida de rega.

Efectuou-se a contagem do número de sementes germinadas durante 12 dias, entre 11 DAS e 25 DAS, tendo-se determinado a taxa de germinação das sementes de salsa por tratamento. Esta taxa foi estimada relativamente ao tempo que foi necessário para que 50% das sementes germinassem e foi calculada como o inverso desse tempo.

### 2.3 Medições da altura das plantas, do comprimento das folhas e do teor relativo de clorofila

No decorrer do ensaio, durante o crescimento das plantas, realizaram-se várias medições semanais. Foram determinadas as alturas das plantas de tomateiro, entre 30 e 90 DAT, bem como o comprimento do folíolo terminal de duas folhas (a 4ª e a 6ª folhas a contar da base da planta) com o auxílio de uma régua e o seu teor relativo de clorofila, através da utilização de um medidor de clorofila portátil, o SPAD-502 (Minolta Corporation, Ramsey, NJ). A medição do comprimento das folhas das plantas e do seu teor relativo de clorofila foi efectuada durante diferentes períodos de tempo, consoante o tratamento, devido aos diferentes estados de desenvolvimento das plantas. Como tal, nos tratamentos Fe<sub>1</sub>, Fe<sub>3</sub> e C<sub>PENEDONO</sub> as medições nas folhas decorreram entre 30 DAT e 49 DAT apenas no folíolo terminal da 4ª folha. Nos restantes tratamentos, as medições foram realizadas entre 30 DAT e 90 DAT e foi possível analisar o crescimento de dois folíolos terminais, correspondentes à 4ª e a 6ª folhas. Nas plantas de salsa foi medida a sua altura e teor relativo de clorofila em várias folhas e plantas por vaso de 38 a 57 DAS.

O SPAD-502 permite a medição do teor de clorofila no local de crescimento das plantas, sem a necessidade de retirar amostras. O aparelho determina o teor relativo de clorofila através das diferentes propriedades de transmitância das folhas. Assim, o aparelho realiza as medições em duas regiões com diferentes comprimentos de onda, a zona do vermelho (650 nm) e a do infra-vermelho (940 nm). Usando as duas transmitâncias o aparelho calcula um valor numérico proporcional ao teor de clorofila presente na folha (Madeira *et al.*, 2003).

As leituras foram realizadas a cerca de 1 cm da margem da folha, sendo o valor obtido a média de duas a seis leituras. Na determinação do teor de clorofila dos tomateiros realizaram-se duas (em folhas pequenas, jovens ou não expandidas) a seis (folhas adultas completamente expandidas) medições por folha, dependendo da dimensão da folha, sendo efectuada a sua média directamente no aparelho. Quanto à salsa, devido às reduzidas dimensões das folhas, foram feitas cinco medições em cinco plantas do mesmo vaso e efectuou-se a média aritmética tal como para os tomateiros.

### 2.4 Determinação do peso fresco e seco das plantas – colheita parcial e final

Realizou-se uma colheita parcial das plantas de tomateiro a 28 DAT e, devido ao diferente estado de desenvolvimento das plantas remanescentes, efectuaram-se três colheitas finais a 90 DAT (Fe<sub>1</sub>, Fe<sub>3</sub>, C<sub>PENEDONO</sub>), 112 DAT (PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub>) e 138 DAT (MO). Nas datas das colheitas as plantas apresentavam-se com 110, 132 e 158 dias,



respectivamente. As plantas de salsa foram colhidas a 59 DAS.

Imediatamente após as colheitas parciais e finais das plantas de tomateiro e de salsa foi efectuada a separação das raízes e parte aérea tendo sido registados os respectivos pesos frescos. A parte aérea dos tomateiros foi separada em caules, folhas, flores e frutos; os dois últimos componentes encontravam-se apenas nos tratamentos de MO, PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub>. De seguida, o material vegetal foi lavado com água desionizada e posto a secar numa estufa de ventilação forçada à temperatura de 60 °C. Ao fim de 48 horas as plantas foram retiradas da estufa e foram registados os seus pesos secos.

### **3. CARACTERÍSTICAS DO SOLO CONTAMINADO E ANÁLISE ELEMENTAR DAS PLANTAS APÓS A COLHEITA**

Após a colheita das plantas os solos foram novamente caracterizados quanto ao seu pH (H<sub>2</sub>O), carbono orgânico, teores em fósforo e potássio assimiláveis, azoto orgânico e azoto mineral. Determinou-se também a actividade enzimática da desidrogenase (Tabatabai, 1994) e da fosfatase ácida (Tabatabai e Bremner, 1969; Eivazi e Tabatabai, 1977). Estes parâmetros foram determinados quer nos solos com plantas, quer em solo nu. Todas as análises do solo foram efectuadas nos Laboratórios do Departamento de Química Agrícola e Ambiental do Instituto Superior de Agronomia, tal como a digestão das plantas. A determinação dos elementos minerais nas plantas (Al, As, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn) foi efectuada no Laboratório Central de Análises da Universidade de Aveiro. Os procedimentos efectuados encontram-se descritos no Anexo I.

### **4. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS**

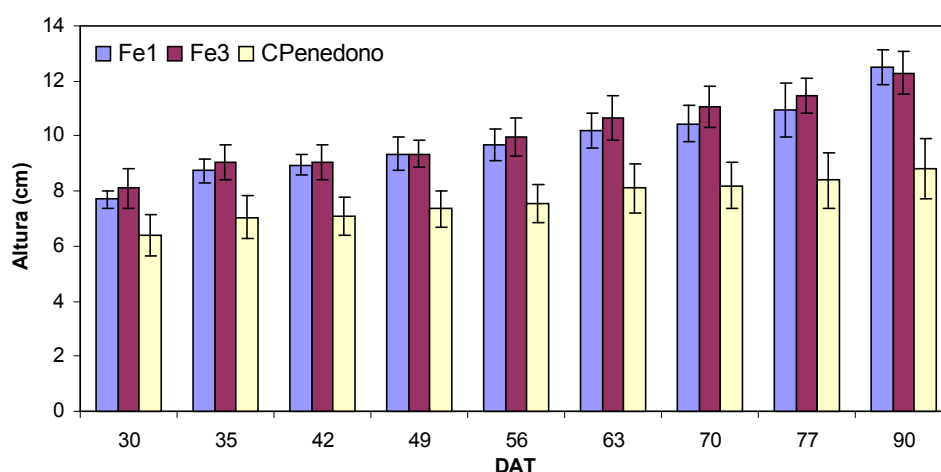
Os parâmetros do solo e as concentrações em elementos minerais das plantas nos diferentes tratamentos e em solo com tomateiros, solo com salsa e solo sem plantas foram comparados através da realização de uma análise de variância multifactorial Anova recorrendo ao Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). A análise estatística relativa ao desenvolvimento, crescimento e produção das plantas foi realizada da mesma forma, no programa STATISTICA 6.1.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1. ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO DA CULTURA DE TOMATE

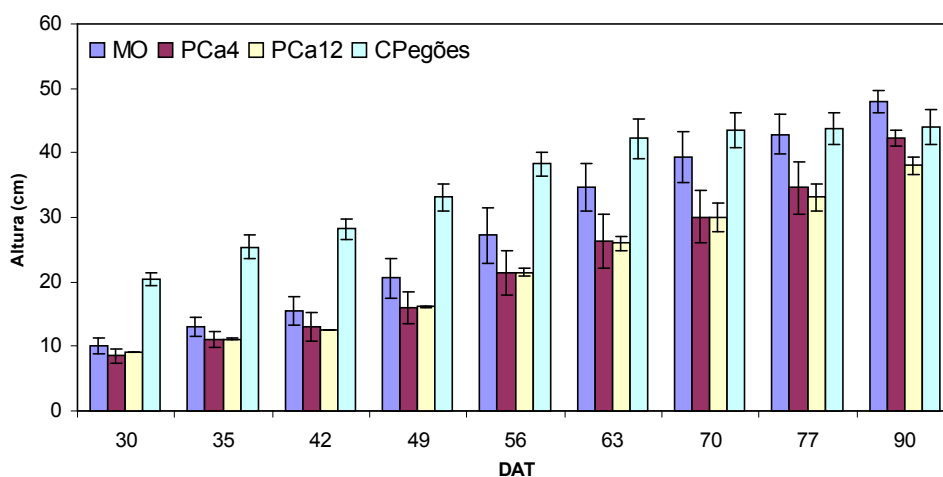
#### 1.1 Altura dos tomateiros

Relativamente às alturas atingidas por estas plantas (entre 30 e 90 dias após o transplante, DAT) verificaram-se comportamentos distintos entre os vários tratamentos. O menor crescimento ocorreu no solo contaminado sem aditivos ( $C_{PENEDONO}$ ) onde as plantas não ultrapassaram os 8,8 cm de altura em 90 DAT (Fig. 2), tendo sido estatisticamente diferente de todos os outros tratamentos. Também em ambos os tratamentos de óxidos de ferro ( $Fe_1$  e  $Fe_3$ ) o crescimento das plantas se manteve reduzido durante o período de medições, comparativamente com MO,  $PCa_4$  e  $PCa_{12}$ . Pode afirmar-se que, em termos estatísticos, estes dois tratamentos apresentaram comportamentos semelhantes quanto a este parâmetro. De facto, a 90 DAT, as plantas de  $Fe_1$  registaram uma altura média de 12,5 cm e as de  $Fe_3$  de 12,3 cm (Fig. 2). Hartley e Lepp (2008) indicaram a goethite numa concentração de  $10 \text{ g kg}^{-1}$  como o óxido de ferro que, como aditivo do solo, apresentou melhores resultados no crescimento de tomateiros em solos contaminados com arsénio mas verificaram também que o crescimento das plantas foi bastante inferior ao de tomateiros que cresceram em solo não contaminado.



**Figura 2** – Altura média dos tomateiros nos tratamentos  $Fe_1$ ,  $Fe_3$  e  $C_{PENEDONO}$ , de 30 a 90 dias após o transplante (DAT).

Por outro lado, o tratamento com matéria orgânica (MO) foi o que deu origem a um maior crescimento das plantas, atingindo em média 48 cm de altura no fim do período de medições (90 DAT), apresentando melhores resultados do que o solo não contaminado ( $C_{\text{PEGÕES}}$ , com 44 cm) (Fig. 3). Embora as plantas do tratamento MO tenham apresentado um crescimento inicial mais lento, comparativamente a  $C_{\text{PEGÕES}}$ , a partir de 70 DAT e até ao final do período de medições ambos foram estatisticamente semelhantes. Os dois níveis de fosfato ( $\text{PCa}_4$  e  $\text{PCa}_{12}$ ) utilizados mostraram um comportamento igual (Fig. 3) desde a primeira medição até quase ao final do estudo pois, apenas em 90 DAT, deixaram de apresentar alturas idênticas em termos estatísticos (42,3 cm e 38,0 cm, respectivamente).



**Figura 3** – Altura média dos tomateiros nos tratamentos MO,  $\text{PCa}_4$ ,  $\text{PCa}_{12}$  e  $C_{\text{PEGÕES}}$ , de 30 a 90 dias após o transplante (DAT).

Mascher *et al.* (2002) concluíram que baixas concentrações de arsénio no solo podem funcionar como fertilizante levando ao aumento do desenvolvimento de trevos. De acordo com Carbonnel-Barrachina *et al.* (1995), a cultura do tomate também parece ser beneficiada por baixas concentrações de arsénio no solo, podendo o metalóide funcionar como um estimulante ao crescimento desta espécie. Em 2002, Miteva verificou que, para concentrações até  $25 \text{ mg As kg}^{-1}$  de solo, ocorre um aumento de altura dos caules de tomateiro, enquanto que, concentrações superiores – de 50 a  $100 \text{ mg As kg}^{-1}$  solo – provocam um efeito oposto. Com o presente estudo foi igualmente possível verificar que o teor em arsénio disponível no solo pode influenciar o crescimento dos tomateiros de forma positiva. Os dados obtidos revelam que, para disponibilidades do metalóide no solo de  $20,7 \text{ mg kg}^{-1}$  (MO),  $21,9 \text{ mg kg}^{-1}$  ( $\text{PCa}_4$ ) e  $41,3 \text{ mg kg}^{-1}$  ( $\text{PCa}_{12}$ ) os tomateiros apresentaram alturas mais elevadas do que para concentrações inferiores ( $\text{Fe}_1$ ,  $12,1 \text{ mg As kg}^{-1}$  solo;  $\text{Fe}_3$ ,  $8,7 \text{ mg As kg}^{-1}$  solo; e  $C_{\text{PENEDONO}}$ ,  $10,7 \text{ mg As kg}^{-1}$  solo).

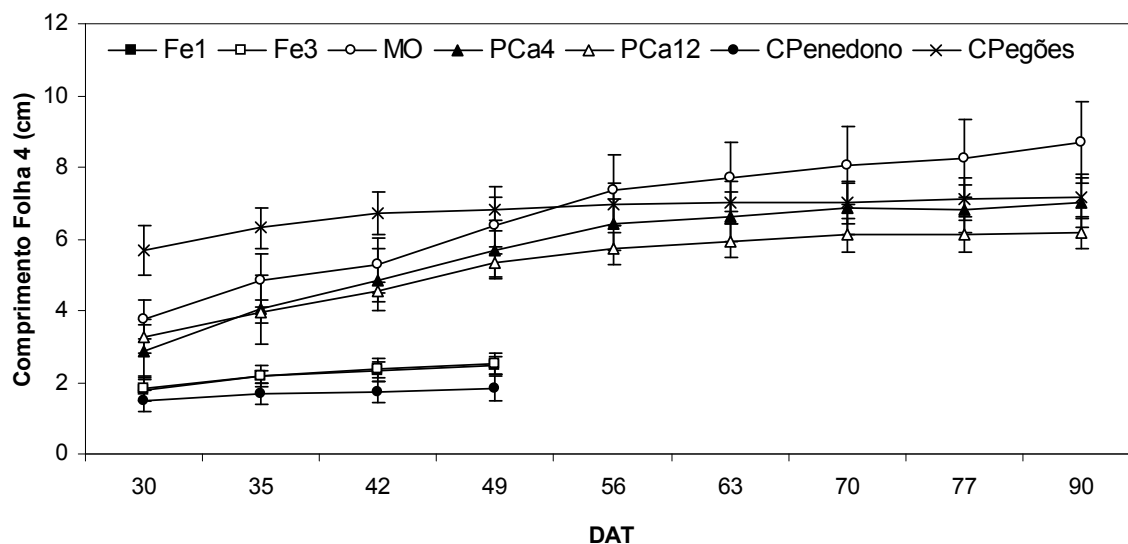
Em  $\text{PCa}_{12}$ , o facto da concentração de arsénio disponível no solo ser mais elevada, só parece começar a ter um efeito menos positivo a partir de 77 DAT, tendo-se mostrado

diferente dos restantes tratamentos a 90 DAT. Assim, em comparação com o estudo de Miteva (2002), pode dizer-se que para concentrações de arsénio no solo entre  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  o crescimento dos tomateiros foi bastante superior do que para concentrações mais baixas do metalóide. Tal como Wang e Mulligan (2006) afirmam, uma maior concentração de óxidos de ferro no solo ( $\text{Fe}_3$  comparativamente a  $\text{Fe}_1$ ) leva à redução da concentração de arsénio disponível no mesmo, no entanto, esta redução não foi benéfica para o crescimento das plantas em  $\text{Fe}_3$ .

## 1.2 Comprimento dos folíolos terminais correspondentes à 4ª e 6ª folhas

Na primeira medição do comprimento foliar verificaram-se semelhanças entre os tratamentos realizados em solo contaminado e apenas  $\text{C}_{\text{PEGÕES}}$  apresentou um resultado estatístico diferente e o maior comprimento do folíolo terminal da 4ª folha (Fig. 4). Nas quatro medições realizadas em  $\text{Fe}_1$ ,  $\text{Fe}_3$  e  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  (entre 30 e 49 DAT), os tratamentos mostraram-se estatisticamente idênticos. Nesta Figura é também perceptível a semelhança relativamente ao comprimento deste folíolo entre os dois níveis de fosfatos e MO.

Com o decorrer do ensaio e de acordo com o crescimento em altura, também o comprimento da 4ª folha dos tomateiros apresentou menores valores finais nos tratamentos  $\text{Fe}_1$ ,  $\text{Fe}_3$  e  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$ . As plantas de  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$ , devido ao seu menor desenvolvimento, atingiram um comprimento máximo do folíolo da 4ª folha de apenas 1,8 cm (49 DAT).

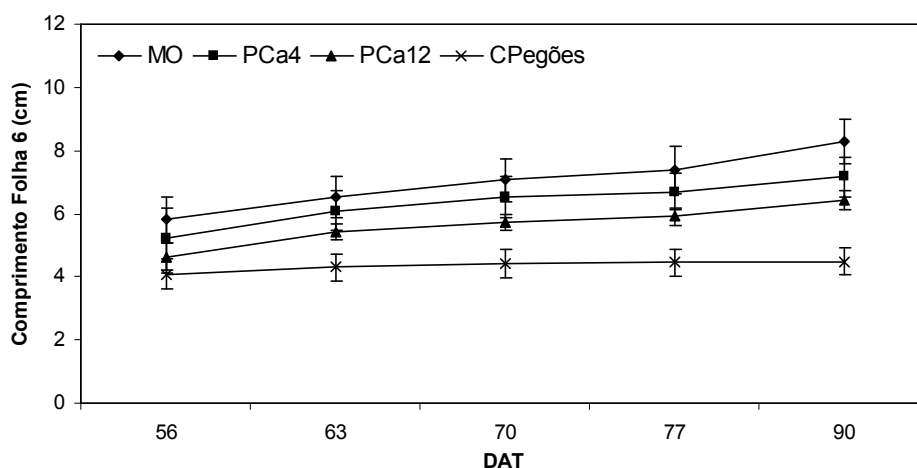


**Figura 4** – Comprimento médio do folíolo terminal da 4ª folha em todos os tratamentos, de 30 a 90 dias após o transplante (DAT).

A 49 DAT já eram bastante perceptíveis as diferenças entre estes tratamentos e os restantes. Os dois tratamentos de fosfatos de cálcio, MO e  $\text{C}_{\text{PEGÕES}}$  apresentaram desde

esta data até ao final das medições comportamentos relativamente semelhantes entre si. No entanto, a partir de 56 DAT, o tratamento MO passou a apresentar um maior desenvolvimento foliar comparativamente a C<sub>PEGÕES</sub> que manteve um comprimento desta folha relativamente constante entre 56 DAT e 90 DAT. Em 90 DAT, MO registava um comprimento médio do folíolo da 4ª folha de 8,7 cm, sendo diferente de todos os outros tratamentos, enquanto que em C<sub>PEGÕES</sub> não ultrapassou 7,2 cm. A análise estatística efectuada revelou que C<sub>PEGÕES</sub> e ambos os níveis de fosfatos de cálcio registaram valores semelhantes em 90 DAT.

Nos tratamentos MO, PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub> o desenvolvimento das plantas permitiu efectuar medições no folíolo terminal da 6ª folha entre 56 DAT e 90 DAT (Fig. 5). A 90 DAT, todos os tratamentos apresentavam comportamentos diferentes entre si. As plantas do tratamento de MO registaram maiores comprimentos neste folíolo chegando aos 8,3 cm. O controlo não contaminado registou os menores valores nesta fase do ensaio, não ultrapassando os 4,5 cm de comprimento. Isto porque as plantas de C<sub>PEGÕES</sub> já se encontravam na fase reprodutiva e, por isso, apresentaram um comportamento estatístico diferente relativamente aos outros três tratamentos que, embora tenham seguido a mesma tendência de desenvolvimento e crescimento, revelaram-se relativamente diferentes. Entre as duas concentrações de fosfatos de cálcio, o tratamento com a menor concentração (PCa<sub>4</sub>), obteve maiores comprimentos no folíolo da 6ª folha (7,2 cm) em relação a PCa<sub>12</sub> (5,4 cm).



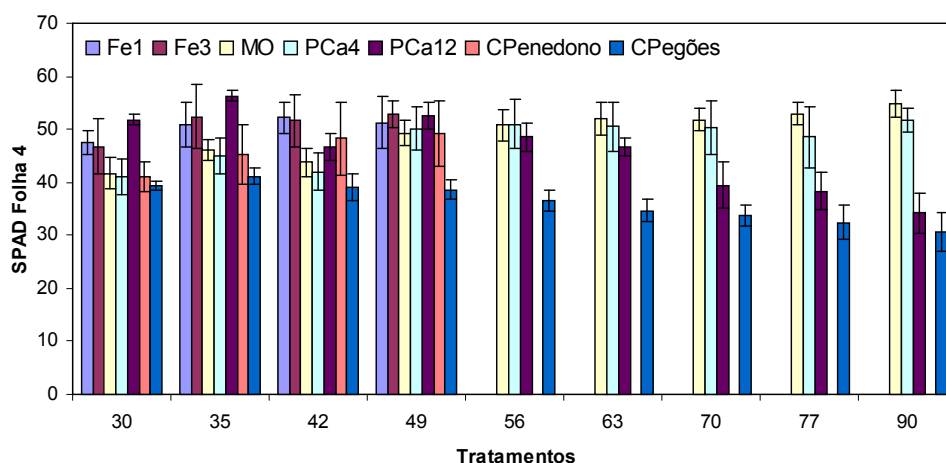
**Figura 5** – Comprimento médio do folíolo terminal da 6ª folha de tomateiro nos tratamentos MO, PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub>, de 56 a 90 dias após o transplante (DAT).

### 1.3 Teor relativo de clorofila dos folíolos terminais correspondentes às 4ª e 6ª folhas

A medição dos teores relativos de clorofila através de leitura com SPAD-502 revelou uma maior homogeneidade entre os tratamentos comparativamente com o comprimento dos

folíolos terminais. É possível verificar que no início das medições, a 30 DAT (Fig. 6), todos os tratamentos registaram valores médios de SPAD estatisticamente semelhantes, exceptuando PCa<sub>12</sub>, que apresentou o valor de SPAD mais alto (58,2). Entre os restantes tratamentos é possível referir a proximidade entre os dois níveis de óxidos de ferro e por outro lado, entre os tratamentos de MO, PCa<sub>4</sub>, C<sub>PENEDONO</sub> e C<sub>PEGÕES</sub>, no que respeita aos valores de SPAD. A 49 DAT, data da última medição efectuada às plantas em todos os tratamentos, todos eles são considerados estatisticamente semelhantes quanto ao teor médio de clorofila, excepto o controlo com solo não contaminado (Fig. 6).

Os valores médios de clorofila dos tomateiros nos tratamentos Fe<sub>1</sub>, Fe<sub>3</sub> e C<sub>PENEDONO</sub> mantiveram-se sem grandes alterações entre 30 DAT (47,5; 46,8; e 41,1, respectivamente) e 49 DAT (51,3; 52,9; e 49,2, respectivamente) e foram aqueles que apresentaram os maiores teores deste pigmento, na fase inicial, sem considerar o tratamento de PCa<sub>12</sub> visto os seus valores de SPAD terem diminuído bastante ao longo do estudo. Os valores elevados registados nestes três tratamentos podem dever-se ao facto das folhas serem significativamente mais pequenas, o que significa que terá existido uma maior concentração de clorofila numa área menor. Por outro lado, as folhas das plantas destes tratamentos apresentavam cor arroxeadada e espessamento, referida por Kabata-Pendias & Pendias (2001) e Hartley e Lepp (2008) como sendo um sinal de toxicidade do arsénio, o que pode ter interferido com as leituras do aparelho.

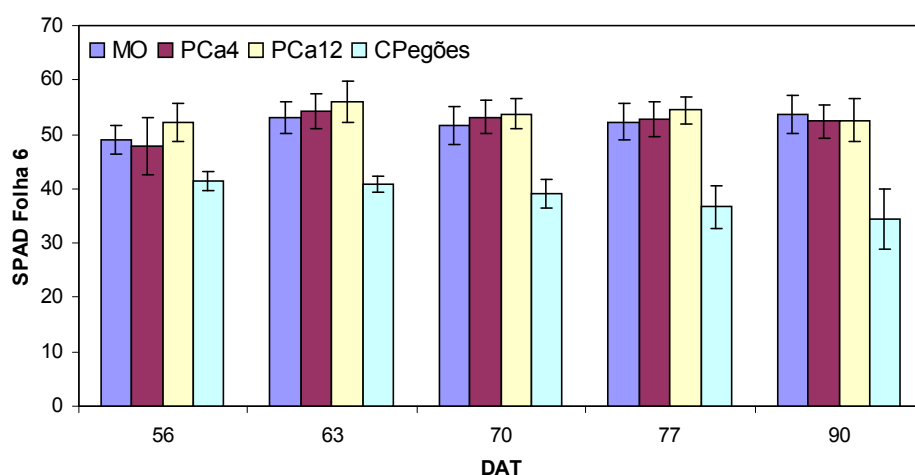


**Figura 6** – Teores relativos de clorofila do folíolo terminal da 4ª folha de tomateiro em todos os tratamentos, de 30 a 90 dias após o transplante (DAT).

Miteva *et al.* (2005) afirmam que concentrações de arsénio disponível no solo acima de 50 mg kg<sup>-1</sup> podem levar à diminuição dos teores médios de clorofila nos tomateiros devido à destruição da estrutura destes pigmentos pelo metalóide, o que pode ter começado a suceder em PCa<sub>12</sub> (41,3 mg As kg<sup>-1</sup> solo) a partir de 70 DAT (39,5). Entre esta data e 90 DAT, MO e PCa<sub>4</sub> (54,9 e 51,7, respectivamente) mostraram um comportamento idêntico e

uma tendência para o teor relativo de clorofila das suas folhas se manter elevado. Os tratamentos PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub> tiveram um comportamento oposto aos anteriores pois os seus teores médios de clorofila diminuíram ao longo do ensaio; estes tratamentos mostraram-se estatisticamente semelhantes entre 70 e 90 DAT. Contudo, é de referir que C<sub>PEGÕES</sub> pode ter apresentado este comportamento por ter iniciado a sua fase reprodutiva cerca de três semanas antes dos outros tratamentos. O decréscimo acentuado do teor médio de clorofila nas plantas do solo não contaminado também pode estar relacionado com a falta de nutrientes deste solo.

As folhas mais jovens (6ª folha) apresentaram teores relativos de clorofila superiores às mais velhas (4ª folha) em todos os tratamentos, excepto em MO cujos valores, em ambas as folhas, se mostraram semelhantes (Fig. 7). Apenas C<sub>PEGÕES</sub> se mostrou diferente dos tratamentos em solo contaminado nas cinco medições, com teores de clorofila bastante inferiores àqueles – entre 41,4 (56 DAT) e 34,4 (90 DAT) – provavelmente porque já haviam iniciado a sua fase reprodutiva. Assim, as medições de SPAD na 6ª folha nos tratamentos MO, PCa<sub>4</sub> e PCa<sub>12</sub> apresentaram comportamentos semelhantes entre 56 DAT e 90 DAT.



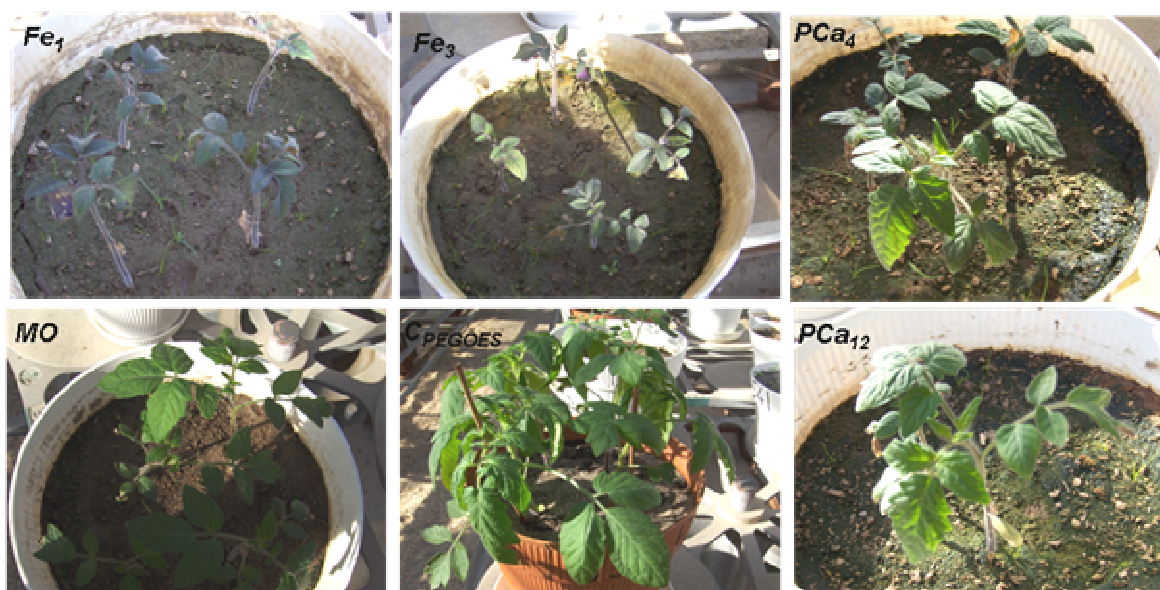
**Figura 7** – Teores relativos de clorofila da 6ª folha de tomateiro nos tratamentos MO, PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub>, de 56 a 90 dias após o transplante (DAT) .

#### 1.4 Determinação do peso fresco e seco – colheita parcial e final

De modo a maximizar o sucesso da transplantação das plântulas de tomateiro dos tabuleiros de germinação para os vasos finais colocaram-se quatro plântulas em cada vaso. Posteriormente, para diminuir os efeitos de competição, as plantas foram reduzidas a dois tomateiros por vaso. Desta forma, são apresentados os valores referentes à colheita parcial e à colheita final de tomateiro.

### 1.4.1 Colheita Parcial

Anteriormente à colheita parcial dos tomateiros, realizada a 28 DAT, já era visível uma grande diferença entre o desenvolvimento dos mesmos no controlo não contaminado ( $C_{\text{PEGÕES}}$ ) e nos tratamentos efectuados ao solo de Penedono. Pela Figura 8 é notória a semelhança no desenvolvimento das plantas em ambos os níveis de óxidos de ferro e entre as duas concentrações de fosfatos em 20 DAT. Embora as plantas de  $C_{\text{PEGÕES}}$  se tenham desenvolvido mais rapidamente, os tomateiros do tratamento de matéria orgânica também se encontravam com um aspecto saudável e desenvolvimento superior aos restantes.



**Figura 8** – Aspecto dos tomateiros 20 dias após transplante nos tratamentos  $Fe_1$ ,  $Fe_3$ ,  $PCa_4$ , MO,  $C_{\text{PEGÕES}}$  e  $PCa_{12}$ .

As diferenças entre tratamentos registadas visualmente são apoiadas pelos pesos secos obtidos aquando da colheita parcial de tomateiro (Quadro 6). Nesta data, a parte aérea das plantas de  $C_{\text{PEGÕES}}$  tinha um peso seco de 1,209 g, muito superior aos 0,108 g do tratamento de MO que registava os melhores resultados em solo contaminado. Os menores pesos secos a 28 DAT foram obtidos em  $C_{\text{PENEDONO}}$  e  $Fe_1$  com 0,028 e 0,029 g, respectivamente. No entanto, estatisticamente, os tratamentos em solo contaminado são considerados idênticos entre si quanto a este parâmetro. Devido à perda de todos os tomateiros transplantados em três dos cinco vasos correspondentes ao tratamento de  $PCa_{12}$  não foi efectuada colheita parcial neste tratamento. Desta forma, visto terem sobrevivido apenas três plantas de tomateiro nos vasos correspondentes ao tratamento de  $PCa_{12}$ , mantiveram-se duas plantas num dos vasos e uma planta no outro.



**Quadro 6** – Pesos frescos (PF) e secos (PS) da parte aérea de tomateiros à colheita parcial (a 28 DAT) para todos os tratamentos

Tratamento	Parte Aérea (g/planta)	
	PF	PS
Fe <sub>1</sub>	0,200 <sup>b</sup> (0,050)	0,029 <sup>b</sup> (0,010)
Fe <sub>3</sub>	0,270 <sup>b</sup> (0,045)	0,037 <sup>b</sup> (0,006)
MO	0,990 <sup>b</sup> (0,282)	0,108 <sup>b</sup> (0,027)
PCa <sub>4</sub>	0,460 <sup>b</sup> (0,152)	0,063 <sup>b</sup> (0,014)
C <sub>PENEDONO</sub>	0,130 <sup>b</sup> (0,057)	0,028 <sup>b</sup> (0,007)
C <sub>PEGÕES</sub>	9,740 <sup>a</sup> (1,313)	1,209 <sup>a</sup> (0,182)

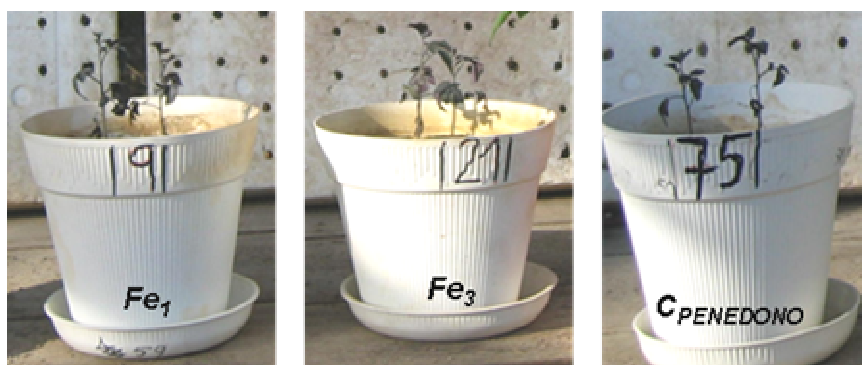
Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P<0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

#### 1.4.2 Colheita Final

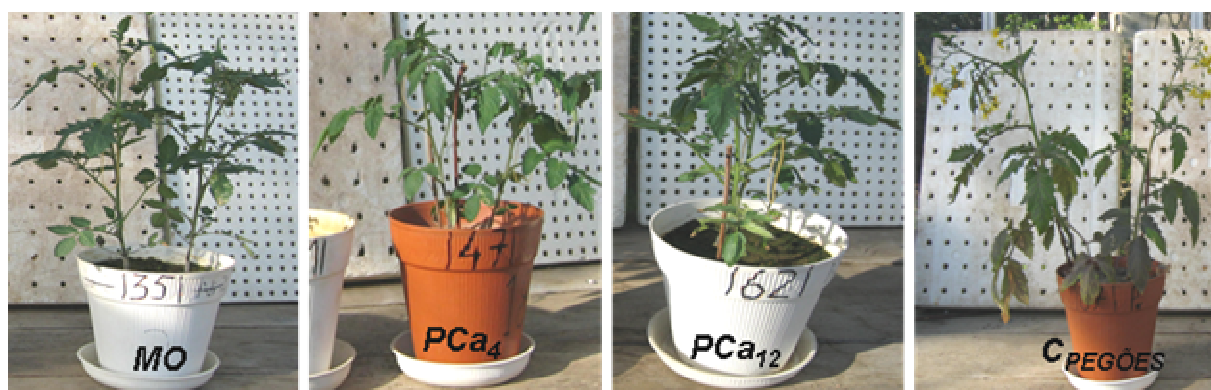
Entre a colheita parcial (a 28 DAT) e a colheita final foi bem visível o desenvolvimento dos tomateiros dos vasos de MO, PCa<sub>4</sub> e PCa<sub>12</sub> que, embora lentamente, começaram a apresentar um aspecto mais semelhante a C<sub>PEGÕES</sub>. Os tratamentos de óxidos de ferro, a 41 DAT, continuavam com um aspecto semelhante ao que apresentavam a 20 DAT e tal como C<sub>PENEDONO</sub> o seu grau de desenvolvimento era muito pequeno (Fig. 9).

**Figura 9** – Aspecto dos tomateiros de MO, C<sub>PEGÕES</sub>, PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub>, Fe<sub>1</sub>, Fe<sub>3</sub> e C<sub>PENEDONO</sub> 41 dias após transplante.

Assim, devido aos diferentes desenvolvimentos observados nos vários tratamentos efectuaram-se três colheitas finais de acordo com o seu estado reprodutivo. Os menores desenvolvimentos verificaram-se em  $Fe_1$ ,  $Fe_3$  e  $C_{PENEDONO}$  pelo que as plantas foram colhidas a 90 DAT (Fig. 10). A 112 DAT colheram-se as plantas dos tratamentos  $PCa_4$ ,  $PCa_{12}$  e  $C_{PEGÔES}$ , cuja diferença entre o aspecto da parte aérea de MO e destes três tratamentos é visível na Figura 11. As plantas correspondentes a MO foram as últimas a ser colhidas, a 138 DAT (Fig. 12).



**Figura 10** – Aspecto dos tomateiros 65 dias após transplante nos tratamentos  $Fe_1$ ,  $Fe_3$  e  $C_{PENEDONO}$ .



**Figura 11** – Aspecto dos tomateiros 65 dias após transplante nos tratamentos MO,  $PCa_4$ ,  $PCa_{12}$  e  $C_{PEGÔES}$ .

Pelas Figuras 8 a 12 e apenas devido ao aspecto das plantas é notória a existência de diferenças no desenvolvimento e crescimento dos tomateiros consoante o aditivo presente no solo. Assim, comparativamente ao solo de Penedono, pode afirmar-se que os óxidos de ferro não demonstraram melhorias visuais no desenvolvimento dos tomateiros. Já os aditivos à base de matéria orgânica e de fosfatos de cálcio parecem melhorar as condições necessárias ao desenvolvimento dos tomateiros neste solo contaminado por arsénio. Contudo, comparativamente ao tratamento MO, verificou-se uma murchidão das folhas das plantas dos tratamentos  $PCa_4$  e  $PCa_{12}$  a 65 DAT (Fig. 11), enquanto que este efeito só começa a ser relevante em MO a 135 DAT e apenas nas folhas mais velhas (Fig. 12). As plantas mais afectadas correspondem ao tratamento  $PCa_{12}$  que foi aquele que

apresentou uma maior concentração de arsénio disponível no solo ( $41,3 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Kabata-Pendias & Pendias (2001) já haviam referido que o arsénio pode provocar a murchidão das folhas das plantas.



**Figura 12** – Aspecto dos tomateiros 135 dias após transplante no tratamento MO; em pormenor, os frutos.

A análise dos dados obtidos na determinação dos pesos frescos e secos dos tomateiros apoia as afirmações anteriores de que os diferentes aditivos utilizados condicionam o seu desenvolvimento e crescimento. Os tomateiros que cresceram nos solos com os aditivos de óxidos de ferro e o solo original contaminado ( $C_{\text{PENEDONO}}$ ) foram aqueles que registaram um menor desenvolvimento, tanto da parte aérea (PA – inclui caule, folhas e flores e frutos, quando existentes) como da parte radicular (PR), enquanto que o tratamento MO registou os maiores pesos em ambas as partes da planta.

No Quadro 7 é possível verificar que a diferença entre os pesos secos das partes aérea e radicular em  $Fe_1$ ,  $Fe_3$  e  $C_{\text{PENEDONO}}$  é pequena, o que demonstra o fraco desenvolvimento e crescimento das plantas. Este facto foi mais visível em  $C_{\text{PENEDONO}}$  onde o peso seco de PA foi de 0,09 g/planta e o peso seco de PR foi de 0,09 g/planta. Pela análise estatística verifica-se que os resultados obtidos por estes três tratamentos, em termos de PA e PR, são idênticos.

Quanto aos restantes tratamentos foram registados maiores desenvolvimentos especialmente, na PA. O tratamento de MO foi o que obteve maiores pesos secos quer em PA como em PR com pesos de 14,80 e 3,79 g/planta, respectivamente. Estes resultados representam valores duas vezes superiores aos pesos secos do controlo não contaminado ( $C_{\text{PEGÕES}}$ ) de 6,12 g/planta em PA e 1,47 g/planta em PR. Por esta razão, o tratamento MO é estatisticamente diferente de todos os outros tratamentos, mas  $C_{\text{PEGÕES}}$  e os dois níveis de

fosfatos de cálcio mostraram semelhanças entre si.

Os pesos obtidos neste trabalho permitem verificar que, com uma concentração de arsênio disponível no solo de cerca de 20,7 e 21,9 mg kg<sup>-1</sup> (MO e PCa<sub>4</sub>, respectivamente), obtiveram-se maiores pesos secos nos tomateiros do que com concentrações mais altas do elemento (PCa<sub>12</sub>) ou mais baixas (C<sub>PENEDONO</sub> e tratamentos à base de óxidos de ferro). O mesmo foi demonstrado com tomateiro (Miteva, 2002) e trevo (Mascher *et al.*, 2002).

Com base nos valores de peso seco de PA e de PR calculou-se a razão raiz/parte aérea (Quadro 7) que mostra as diferenças no crescimento das plantas de acordo com os tratamentos realizados. Assim, C<sub>PENEDONO</sub> apresentou um crescimento aéreo e radicular semelhante e os tratamentos com óxidos de ferro, semelhantes entre si, também não apresentaram um desenvolvimento de PA muito superior a PR. Segundo Mascher *et al.* (2002), uma razão raiz/parte aérea elevada significa que a PA das plantas começou a ser mais negativamente afectada do que a raiz e por isso, o seu crescimento diminuiu. Quanto à razão raiz/parte aérea nos restantes tratamentos, esta foi estatisticamente igual e mostra que PA se desenvolveu mais do que PR.

**Quadro 7** – Razão raiz/parte aérea (relativamente ao peso seco), e pesos frescos (PF) e secos (PS) da parte aérea e radicular de tomateiros à colheita final (a 90, 112 e 138 DAT) para todos os tratamentos

Tratamento	Parte Aérea (g/planta)		Parte Radicular (g/planta)		Raiz/Parte aérea
	PF	PS	PF	PS	
Fe <sub>1</sub>	0,90 <sup>c</sup> (0,23)	0,18 <sup>c</sup> (0,02)	1,26 <sup>d</sup> (0,21)	0,12 <sup>c</sup> (0,02)	0,67 <sup>b</sup>
Fe <sub>3</sub>	0,94 <sup>c</sup> (0,12)	0,17 <sup>c</sup> (0,01)	1,35 <sup>d</sup> (0,22)	0,13 <sup>c</sup> (0,02)	0,76 <sup>b</sup>
MO	82,60 <sup>a</sup> (19,47)	14,8 <sup>a</sup> (3,75)	31,03 <sup>a</sup> (7,67)	3,79 <sup>a</sup> (1,05)	0,26 <sup>a</sup>
PCa <sub>4</sub>	29,14 <sup>b</sup> (2,88)	6,17 <sup>b</sup> (0,25)	13,34 <sup>b</sup> (1,96)	1,57 <sup>b</sup> (0,18)	0,26 <sup>a</sup>
PCa <sub>12</sub>	35,40 <sup>b</sup> (6,51)	5,92 <sup>b</sup> (0,46)	5,83 <sup>cd</sup> (1,71)	0,83 <sup>bc</sup> (0,25)	0,14 <sup>a</sup>
C <sub>PENEDONO</sub>	0,51 <sup>c</sup> (0,13)	0,09 <sup>c</sup> (0,02)	0,77 <sup>d</sup> (0,24)	0,09 <sup>c</sup> (0,02)	1,00 <sup>c</sup>
C <sub>PEGÕES</sub>	41,99 <sup>b</sup> (11,29)	6,12 <sup>b</sup> (1,18)	9,32 <sup>bc</sup> (0,99)	1,47 <sup>b</sup> (0,21)	0,25 <sup>a</sup>

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

Devido ao maior desenvolvimento dos tratamentos MO, PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub> foi possível separar a sua PA em quatro componentes – caules, folhas, flores e frutos – o que permitiu uma análise mais detalhada sobre o desenvolvimento da planta.

O processo de floração dos tomateiros no solo de Pegões (C<sub>PEGÕES</sub>) teve início no fim de Novembro, a 50 DAT, enquanto que as plantas dos tratamentos de fosfatos e MO apenas começaram a desenvolver os seus primeiros botões florais na 2ª semana de Dezembro a 62 DAT (Fig. 13). Este atraso de cerca de três semanas verificou-se também no processo de

frutificação. Em C<sub>PEGÕES</sub> os primeiros frutos surgiram quando se iniciava a floração dos outros três tratamentos (65 DAT). Estes iniciaram o seu processo de frutificação apenas no início de Janeiro a 90 DAT.



**Figura 13** – Aspecto visual relativo ao desenvolvimento vegetativo de C<sub>PEGÕES</sub> e MO a 65 dias após transplante.

Quanto aos componentes de PA pode dizer-se que, entre estes quatro tratamentos e em termos estatísticos, o número de folhas e flores foi superior no tratamento de PCa<sub>4</sub> mas MO registou um maior número de frutos (Quadro 8). Assim, quanto ao número de folhas MO e PCa<sub>12</sub> mostraram-se idênticos; relativamente ao número de flores os tratamentos apresentaram algumas semelhanças entre si. No que respeita ao número de frutos MO foi o melhor tratamento enquanto que os três restantes produziram um número de frutos muito baixo e estatisticamente semelhante.

**Quadro 8** – Número de folhas, flores e frutos nos tratamentos MO, PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub>

Tratamento	Nº folhas/planta	Nº flores/planta	Nº frutos/planta
MO	10,70 <sup>ab</sup> (0,7)	18,80 <sup>bc</sup> (4,7)	18,30 <sup>a</sup> (3,6)
PCa <sub>4</sub>	11,50 <sup>a</sup> (0,9)	27,20 <sup>a</sup> (2,9)	0,50 <sup>b</sup> (0,5)
PCa <sub>12</sub>	10,75 <sup>ab</sup> (0,4)	22,50 <sup>ab</sup> (4,2)	0,50 <sup>b</sup> (0,0)
C <sub>PEGÕES</sub>	9,70 <sup>b</sup> (0,7)	12,90 <sup>c</sup> (3,1)	2,90 <sup>b</sup> (0,5)

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

A matéria orgânica parece ter induzido a formação de frutos visto as plantas deste tratamento apresentarem um número de frutos cerca de seis vezes superior às plantas do solo não contaminado (C<sub>PEGÕES</sub>). Relativamente aos outros tratamentos, a reduzida produção de frutos pode dever-se à maior concentração de arsénio disponível nos solos dos

tratamentos à base de fosfatos de cálcio (21,9 e 41,3 mg As kg<sup>-1</sup> solo em PCa<sub>4</sub> e PCa<sub>12</sub>, respectivamente), comparativamente a MO (20,7 mg As kg<sup>-1</sup> solo), pois a presença deste elemento reduz a formação de frutos (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997; Tlustoš *et al.*, 2006).

Ao analisar o peso seco dos quatro componentes (Quadro 9) constata-se que a adição de matéria orgânica contribuiu para a formação de tomateiros com os pesos mais elevados nos caules, folhas, flores e frutos. Estatisticamente, este foi o melhor tratamento sendo diferente de todos os outros. Entre estes tratamentos verificou-se que as folhas eram o componente de PA com pesos mais elevados. Em MO e em C<sub>PEGÕES</sub> os frutos apresentaram os pesos secos mais elevados (5,46 e 1,79 g, respectivamente) enquanto que em ambos os níveis de fosfatos de cálcio os pesos dos seus frutos foram muito baixos. Pode afirmar-se que os tratamentos PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub> apresentaram o mesmo comportamento quanto ao peso seco das folhas e flores dos seus tomateiros mas, relativamente ao peso seco de caules e frutos, os tratamentos mostraram-se estatisticamente diferentes entre si.

**Quadro 9** – Pesos frescos (PF) e secos (PS) da parte aérea (caules, folhas, flores e frutos) de tomateiros, à colheita final (a 112 e 138 DAT) nos tratamentos MO, PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub>

Tratam.	Peso Fresco (g/planta)				Peso Seco (g/planta)			
	Caule	Folhas	Flores	Frutos	Caule	Folhas	Flores	Frutos
MO	12,49 <sup>a</sup> (3,27)	32,13 <sup>a</sup> (11,08)	2,81 <sup>a</sup> (0,92)	35,17 <sup>a</sup> (7,27)	3,06 <sup>a</sup> (0,81)	5,67 <sup>a</sup> (1,71)	0,62 <sup>a</sup> (0,15)	5,46 <sup>a</sup> (1,19)
PCa <sub>4</sub>	8,50 <sup>b</sup> (0,84)	17,50 <sup>b</sup> (3,43)	2,64 <sup>a</sup> (0,20)	0,50 <sup>c</sup> (0,49)	1,98 <sup>b</sup> (0,11)	3,60 <sup>b</sup> (0,23)	0,51 <sup>b</sup> (0,05)	0,08 <sup>c</sup> (0,09)
PCa <sub>12</sub>	5,85 <sup>b</sup> (0,14)	20,40 <sup>b</sup> (1,91)	1,80 <sup>ab</sup> (0,31)	7,35 <sup>bc</sup> (8,87)	1,14 <sup>c</sup> (0,10)	3,48 <sup>b</sup> (0,49)	0,34 <sup>b</sup> (0,06)	0,97 <sup>bc</sup> (1,11)
C <sub>PEGÕES</sub>	8,13 <sup>b</sup> (1,48)	14,61 <sup>b</sup> (5,06)	1,25 <sup>b</sup> (0,61)	18,0 <sup>b</sup> (9,33)	1,62 <sup>bc</sup> (0,30)	2,47 <sup>b</sup> (0,36)	0,24 <sup>b</sup> (0,10)	1,79 <sup>b</sup> (0,88)

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

Comparativamente com o solo original contaminado com arsénio (C<sub>PENEDONO</sub>), constatou-se que a matéria orgânica foi o melhor aditivo no crescimento e desenvolvimento dos tomateiros. Os tomateiros correspondentes ao solo com este aditivo apresentaram resultados superiores aos restantes em todos os parâmetros analisados, excepto no número de folhas e flores, embora os seus pesos secos fossem superiores. Relativamente a estes dois componentes da parte aérea, o tratamento PCa<sub>4</sub> mostrou uma maior produção. De

facto, ambos os níveis de fosfatos ( $\text{PCa}_4$  e  $\text{PCa}_{12}$ ) apresentaram resultados semelhantes ao solo não contaminado ( $\text{C}_{\text{PEGÕES}}$ ), particularmente em relação aos pesos secos. Quanto aos óxidos de ferro, estes não induziram melhorias significativas comparativamente ao solo de Penedono mostrando-se estatisticamente semelhantes em alguns parâmetros como os pesos secos. Os diferentes comportamentos das plantas podem estar relacionados com as alterações na disponibilidade do arsénio associadas aos aditivos. Apenas  $\text{Fe}_3$  conseguiu reduzir um pouco o valor original em  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  de 10,7 para 8,7 mg As  $\text{kg}^{-1}$  solo e embora  $\text{Fe}_1$  apresentasse um aumento da fracção disponível de arsénio, este foi baixo. Porém a redução de arsénio disponível não se mostrou benéfica ao crescimento dos tomateiros. Por outro lado, os aditivos MO e  $\text{PCa}_4$  que parecem ter induzido o aumento do valor disponível de arsénio no solo original para o dobro e  $\text{PCa}_{12}$  em quatro vezes mostraram-se positivos para o desenvolvimento desta espécie.

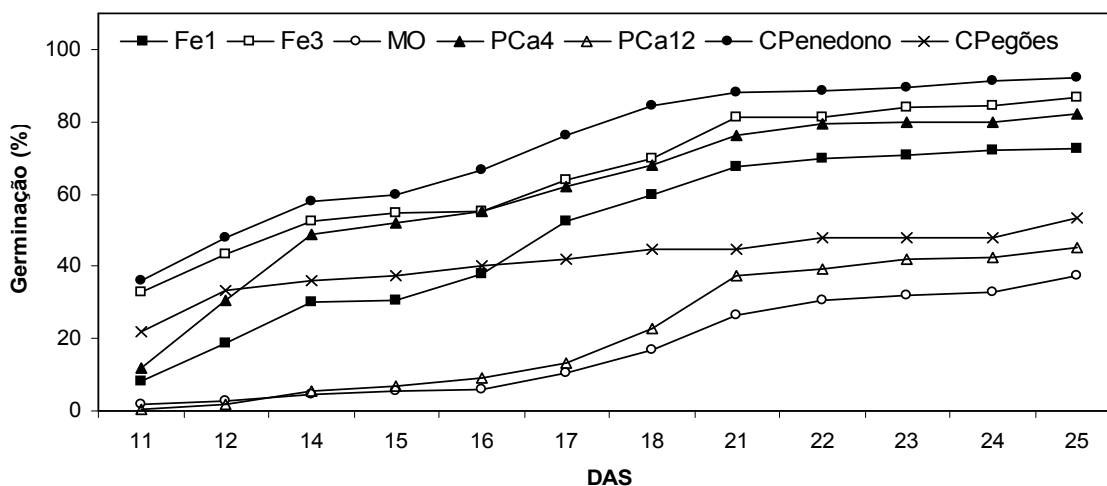
O desenvolvimento e crescimento das plantas de tomateiro pode ter sido também condicionado pelas condições meteorológicas registadas após o transplante das plântulas para os vasos. Embora o local onde decorreu o ensaio se trate de um ambiente controlado não foi possível, em tal espaço, reproduzir as condições óptimas exigidas ao desenvolvimento da cultura durante todo o período do ensaio. De acordo com as indicações da FAO o correcto desenvolvimento da cultura do tomateiro pode ser afectado quando a temperatura diurna desce abaixo dos 18 °C e a nocturna abaixo dos 10 °C ([http://www.fao.org/nr/water/cropinfo\\_tomato.htm](http://www.fao.org/nr/water/cropinfo_tomato.htm)). No período correspondente ao desenvolvimento dos tomateiros nos vasos (10 de Outubro a 25 de Fevereiro) verificaram-se estas condições nos meses de Dezembro e Janeiro (Quadro 5, Materiais e Métodos) o que pode ter levado a uma mais rápida perda de vitalidade das plantas como aconteceu aos tomateiros de  $\text{C}_{\text{PEGÕES}}$ , além da possível deficiente nutrição das plantas, neste caso.

## 2. ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO DA CULTURA DA SALSA

### 2.1 Germinação

Apesar de se terem utilizado duas camadas de solo de Pegões de modo a que as condições de germinação da salsa fossem semelhantes ocorreram comportamentos iniciais diferentes (Fig. 14). Assim, enquanto que os tratamentos MO e  $\text{PCa}_{12}$  apresentaram uma germinação inicial baixa, em  $\text{Fe}_3$  e  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  germinou um maior número de sementes. Os tratamentos  $\text{Fe}_1$ ,  $\text{PCa}_4$  e  $\text{C}_{\text{PEGÕES}}$  apresentaram um comportamento intermédio a 11 DAS. Contudo, na última contagem efectuada a 25 DAS, verificou-se a existência de dois grupos

com comportamentos distintos. O solo contaminado registou uma maior germinação de sementes (92%), seguido pelo tratamento  $\text{Fe}_3$  (87%),  $\text{PCa}_4$  (82%) e  $\text{Fe}_1$  (73%). Por outro lado, o tratamento de MO obteve a menor percentagem de germinação onde apenas 37% das sementes germinaram, tal como em  $\text{PCa}_{12}$  (45%) e  $\text{C}_{\text{PEGÕES}}$  (53%).



**Figura 14** – Germinação da salsa em todos os tratamentos, de 11 a 25 dias após a sementeira (DAS).

Ao determinar a taxa de germinação das sementes de salsa necessária para atingir 50% de germinação (Quadro 10) verificou-se que os tratamentos  $\text{Fe}_3$ ,  $\text{PCa}_4$  e  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  apresentaram as taxas de germinação mais altas e estas foram semelhantes. Por outro lado, os tratamentos MO e  $\text{PCa}_{12}$  também se mostraram semelhantes tendo obtido as taxas de germinação mais baixas. Os outros dois tratamentos ( $\text{Fe}_1$  e  $\text{C}_{\text{PEGÕES}}$ ) mostraram-se diferentes dos tratamentos anteriores e entre si.

**Quadro 10** – Taxa de germinação da salsa nos vários tratamentos

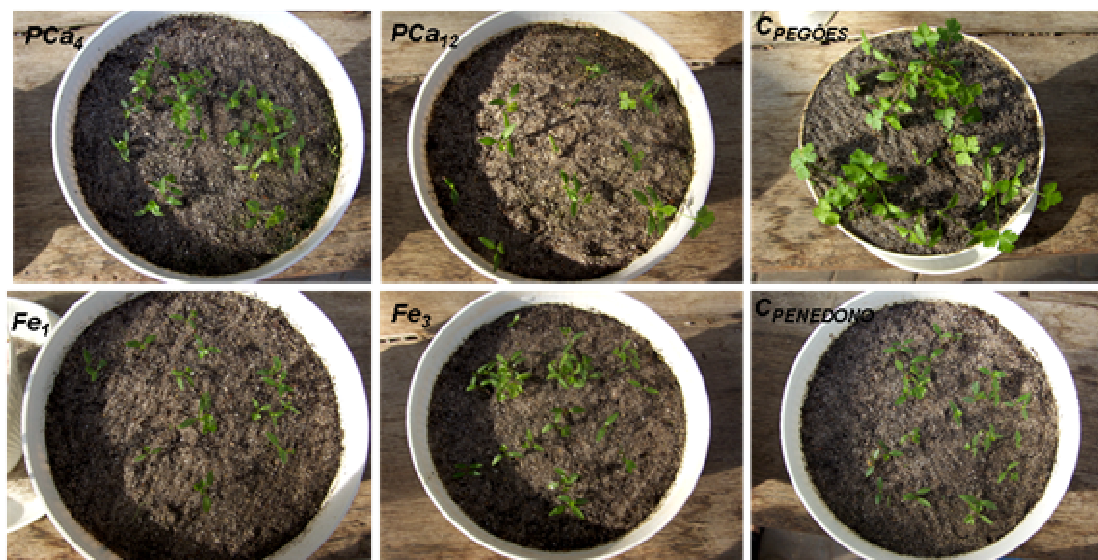
Tratamento	Taxa de Germinação*
$\text{Fe}_1$	0,059
$\text{Fe}_3$	0,077
MO	< 0,04
$\text{PCa}_4$	0,071
$\text{PCa}_{12}$	< 0,04
$\text{C}_{\text{PENEDONO}}$	0,077
$\text{C}_{\text{PEGÕES}}$	0,042

\* 1/tempo necessário para a germinação de 50% das sementes

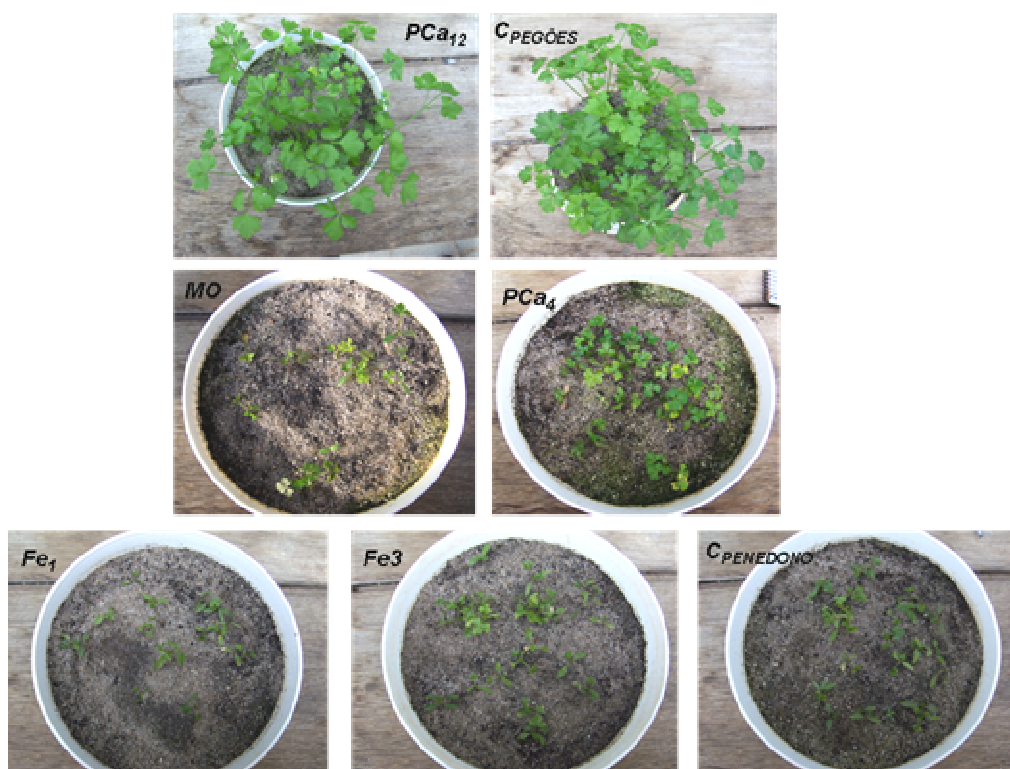
As grandes diferenças na taxa de germinação dos vários tratamentos podem estar relacionadas com os aditivos utilizados mas também com outros factores referidos por Simon *et al.* (s/d). Estes autores indicam a salsa como sendo uma cultura instável quanto à



germinação e emergência das sementes, maioritariamente, devido às diferenças de qualidade num mesmo lote, o que poderia ter ocorrido no presente estudo. Na Figura 15 (28 DAS) é possível constatar as diferenças no desenvolvimento inicial da salsa. Verifica-se assim, que as plantas do solo não contaminado de Pegões iniciaram o seu desenvolvimento mais rapidamente do que as plantas dos tratamentos de solo contaminado.



**Figura 15** – Aspecto da salsa nos tratamentos PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub>, C<sub>PEGÕES</sub>, Fe<sub>1</sub>, Fe<sub>3</sub> e C<sub>PENEDONO</sub> a 28 dias após sementeira.



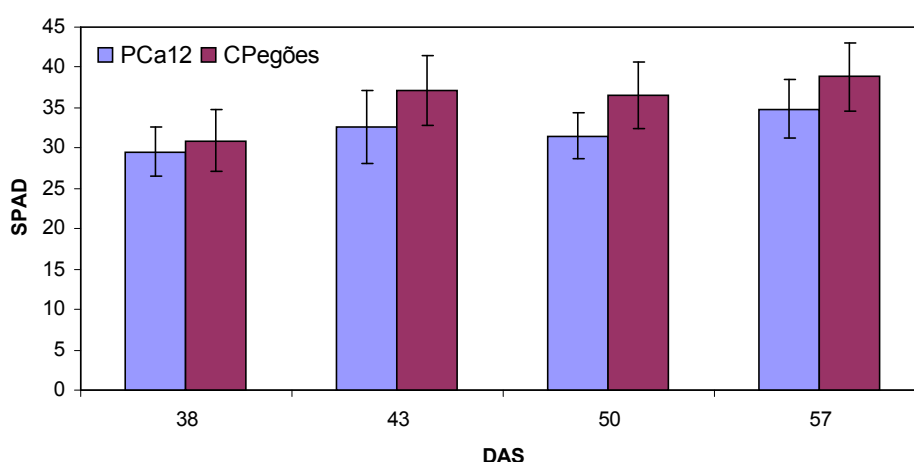
**Figura 16** – Aspecto da salsa nos tratamentos PCa<sub>12</sub>, C<sub>PEGÕES</sub>, MO, PCa<sub>4</sub>, Fe<sub>1</sub>, Fe<sub>3</sub> e C<sub>PENEDONO</sub> a 49 dias após sementeira.

## 2.2 Altura da salsa

Em relação à salsa foi efectuado um menor número de medições do que nos tomateiros pois as plantas apresentavam-se pouco desenvolvidas e a sua colheita final foi efectuada mais cedo. A 49 DAS as plantas continuavam a apresentar grandes diferenças de desenvolvimento (Fig. 16) e, por isso, apenas foi possível realizar medições de altura e dos teores relativos de clorofila no tratamento PCa<sub>12</sub> e em C<sub>PEGÕES</sub>. Embora estes dois tratamentos tenham registado as taxas de germinação mais baixas a seguir a MO, foi nestes solos que as plantas de salsa tiveram maiores crescimentos. Os restantes tratamentos apresentaram plantas com apenas 1 a 2 cm de altura. Assim, efectuou-se apenas uma medição da altura das plantas a 50 DAS (nove dias antes da colheita) onde se registaram alturas médias de 6,5 cm em PCa<sub>12</sub> e 9,8 cm em C<sub>PEGÕES</sub>.

## 2.3 Teor relativo de clorofila das folhas de salsa

Os valores de SPAD obtidos com as medições realizadas nos tratamentos PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub> mostraram que os teores relativos de clorofila nos dois tratamentos se mantiveram semelhantes em todas as medições, embora o controlo registasse valores um pouco mais elevados. Em ambos os tratamentos verificou-se uma tendência para um pequeno aumento nos teores médios de clorofila das folhas de salsa com o tempo. A 38 DAS, os valores de SPAD em PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub> eram de 29,6 e 30,9 enquanto que a 57 DAS os valores subiram para 34,8 e 38,8, respectivamente (Fig. 17). Contudo, as diferenças no teor de clorofila das folhas das plantas destes dois tratamentos não foram estatisticamente significativas.



**Figura 17** – Teores relativos de clorofila da salsa nos tratamentos PCa<sub>12</sub> e C<sub>PEGÕES</sub>, de 38 a 57 dias após a sementeira (DAS).

## 2.4 Determinação do peso fresco e seco da salsa

Relativamente aos pesos fresco e seco registados pelas plantas de salsa é possível afirmar que existiram grandes diferenças. A 57 DAS, dois dias antes da colheita, era bem visível o bom desenvolvimento das plantas dos vasos do controlo de Pegões e de  $PCa_{12}$  comparativamente aos restantes tratamentos (Fig. 18).



**Figura 18** – Aspecto da salsa nos tratamentos  $Fe_1$ ,  $Fe_3$ , MO,  $PCa_4$ ,  $PCa_{12}$ ,  $CPENEDONO$  e  $CPEGÕES$  a 57 dias após sementeira.

Analisando os pesos secos verificou-se que, em todos os tratamentos realizados, a PA da salsa encontrava-se mais desenvolvida do que a PR (sendo o valor desta cerca de metade do valor de PA) como é possível verificar no Quadro 11. Isto significa que a presença de arsénio estaria a condicionar mais fortemente o desenvolvimento das raízes de salsa do que da parte aérea, tal como se verifica na maioria das espécies (Kabata-Pendias & Pendias, 2001).

O controlo de Pegões apresentou os maiores pesos secos, quer de PA (193,2 mg/planta) quer de PR (91,1 mg/planta), seguido por  $PCa_{12}$  (PA com 113,7 mg/planta e PR com 51,1 mg/planta). Os pesos secos das plantas de  $CPEGÕES$  (tanto de PA como de PR) eram cerca de 1,7 vezes superiores aos pesos secos de  $PCa_{12}$ , pelo que os tratamentos se mostraram estatisticamente diferentes. Os restantes tratamentos apresentaram pesos secos

muito mais baixos tanto de PA como PR sendo todos semelhantes entre si, em termos estatísticos. O menor nível de óxidos de ferro adicionado foi o que registou os pesos secos mais baixos não ultrapassando os 3,0 mg/planta em PA e os 1,6 mg/planta em PR.

**Quadro 11** – Pesos frescos (PF) e secos (PS) da parte aérea e da parte radicular de salsa à colheita final (59 DAS) para todos os tratamentos

Tratamento	Parte Aérea (mg/planta)		Raiz (mg/planta)		Raiz/P.Aérea
	PF	PS	PF	PS	
Fe <sub>1</sub>	16,0 <sup>c</sup> (1,0)	3,0 <sup>c</sup> (0,4)	19,1 <sup>c</sup> (3,3)	1,6 <sup>c</sup> (0,3)	53,5
Fe <sub>3</sub>	17,0 <sup>c</sup> (2,0)	3,3 <sup>c</sup> (0,2)	25,0 <sup>c</sup> (2,8)	2,1 <sup>c</sup> (0,2)	64,6
MO	30,0 <sup>c</sup> (2,0)	4,7 <sup>c</sup> (0,5)	21,4 <sup>c</sup> (5,7)	2,1 <sup>c</sup> (4,0)	43,4
PCa <sub>4</sub>	32,0 <sup>c</sup> (4,0)	6,1 <sup>c</sup> (8,0)	34,8 <sup>c</sup> (6,0)	2,6 <sup>c</sup> (0,5)	43,2
PCa <sub>12</sub>	802,0 <sup>b</sup> (288,0)	113,7 <sup>b</sup> (36,0)	959,0 <sup>b</sup> (402,0)	51,1 <sup>b</sup> (27,0)	45,0
C <sub>PENEDONO</sub>	18,0 <sup>c</sup> (3,0)	3,5 <sup>c</sup> (0,6)	27,6 <sup>c</sup> (10,2)	1,8 <sup>c</sup> (0,3)	52,9
C <sub>PEGÕES</sub>	1317,0 <sup>a</sup> (510,0)	193,2 <sup>a</sup> (42,1)	2042,0 <sup>a</sup> (443,0)	91,1 <sup>a</sup> (18,7)	47,2

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

Estes resultados apontam para que o fosfato de cálcio, na concentração mais elevada (12 g kg<sup>-1</sup>), foi o melhor aditivo no crescimento da salsa neste solo, embora fosse o tratamento com uma maior concentração de arsénio disponível no solo (41,3 mg kg<sup>-1</sup>). O crescimento e desenvolvimento registado pelas plantas do tratamento PCa<sub>12</sub> foi bastante superior aos restantes tratamentos e as suas plantas apresentavam um aspecto semelhante ao da salsa semeada no solo não contaminado de Pegões. Por outro lado, ao comparar com o controlo de solo original contaminado os restantes aditivos parecem não ter nenhum efeito positivo no crescimento desta cultura uma vez que os seus resultados são semelhantes.

### 3. CARACTERÍSTICAS DO SOLO CONTAMINADO APÓS A COLHEITA DAS PLANTAS

Os valores obtidos em todos os parâmetros determinados nos Pontos 3 e 4, bem como a sua análise estatística, são apresentados no Quadro 21 do Anexo II. No solo não contaminado de Pegões não foram utilizados vasos sem planta.

### 3.1 pH

Ao comparar os valores de pH no solo antes da sementeira/plantação com o pH do solo nu (sem plantas) determinado no fim do ensaio verificou-se que este parâmetro sofreu um aumento em todos os tratamentos excepto em MO, no qual o pH desceu ligeiramente. Ainda assim, este tratamento apresentou o valor mais elevado de pH do solo (5,14), tal como  $\text{PCa}_{12}$  (5,07) e  $\text{PCa}_4$  (5,00) existindo semelhanças entre os três tratamentos. Os valores de pH mais baixos em solo nu ocorreram em  $\text{Fe}_1$  (4,42),  $\text{Fe}_3$  e  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  (ambos com pH 4,46) sendo os três tratamentos estatisticamente semelhantes.

Nos solos com tomateiros verificou-se um aumento do pH em todos os tratamentos relativamente ao pH após incubação do solo. O tratamento MO registou o pH mais elevado (5,57) e foi considerado estatisticamente diferente de todos os outros. Os tratamentos de  $\text{PCa}_4$  (5,00) e  $\text{PCa}_{12}$  (5,13) mostraram-se semelhantes entre si tal como  $\text{Fe}_1$  (4,62),  $\text{Fe}_3$  (4,38) e  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  (4,42) que registaram os valores mais baixos. Relativamente ao solo nu, o aumento do pH do solo devido à presença dos tomateiros apenas se mostrou significativo no tratamento de MO.

Quanto ao pH dos solos com salsa apenas se verificou um decréscimo no pH do solo após o ensaio em MO, tendo subido nos outros tratamentos. Neste caso, o valor de pH mais elevado foi determinado no solo correspondente a  $\text{PCa}_{12}$  (5,12) que se mostrou semelhante ao tratamento MO (5,01) e  $\text{PCa}_4$  (4,77). Os tratamentos à base de óxidos de ferro registaram os valores mais baixos de pH (ambos com 4,44) sendo estatisticamente semelhantes a  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  (4,55). Verificou-se que a presença de salsa, comparativamente ao solo nu, não provocou diferenças significativas no pH do solo.

No solo não contaminado ( $\text{C}_{\text{PEGÕES}}$ ) o pH inicial era de 5,40 e após o ensaio os valores nos vasos de tomateiro aumentaram ligeiramente (5,44) enquanto que em salsa diminuíram um pouco (5,28). Estes resultados parecem indicar diferenças relativamente ao comportamento das raízes das duas espécies no solo. Enquanto que a presença do tomateiro, em solo contaminado e não contaminado, leva a pequenas subidas de pH a salsa parece ter o efeito contrário.

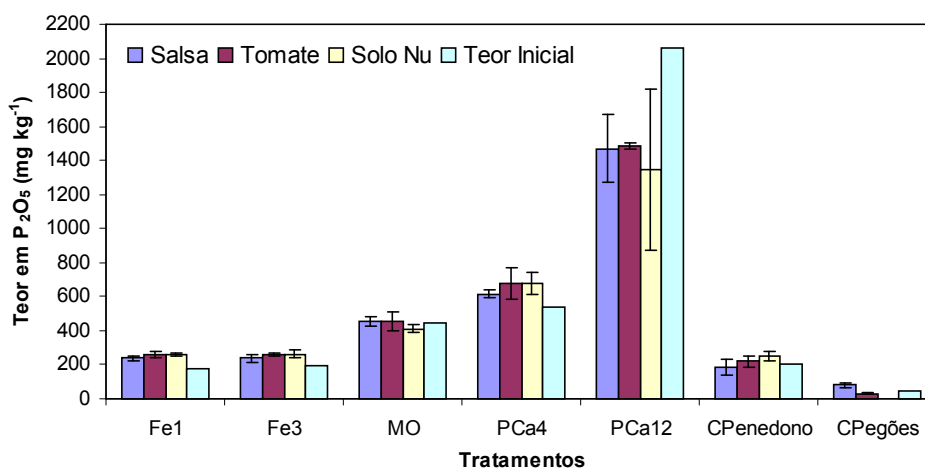
### 3.2 Fósforo assimilável

A comparação entre os teores em  $\text{P}_2\text{O}_5$  determinados após o período de incubação do solo e os teores em  $\text{P}_2\text{O}_5$  registados após a colheita das plantas evidencia um aumento no teor de fósforo assimilável em todos os tratamentos, com excepção em  $\text{PCa}_{12}$  (solo nu, solo com tomateiros e solo com salsa), solo nu do tratamento MO e solo com salsa em  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$ .

Como seria de esperar, os teores mais elevados de fósforo assimilável no solo encontraram-se no tratamento  $\text{PCa}_{12}$  – visto este conter a concentração mais elevada de fosfatos – em solo nu ( $1493,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ), solo com tomateiros ( $1485,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e solo com salsa ( $1494,4 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Por outro lado, os teores mais baixos de  $\text{P}_2\text{O}_5$  foram registados em  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  com  $252,2 \text{ mg kg}^{-1}$  em solo nu,  $219,38 \text{ mg kg}^{-1}$  no solo com tomateiros e  $184,42 \text{ mg kg}^{-1}$  no solo com salsa (Fig. 19). Enquanto que  $\text{PCa}_{12}$  foi estatisticamente diferente de todos os outros tratamentos,  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  mostrou-se relativamente semelhante aos dois tratamentos à base de óxidos de ferro.

Além dos aditivos à base de fosfatos a matéria orgânica também se comportou como uma boa fonte de fósforo assimilável para as plantas beneficiando o poder nutritivo, neste elemento, no solo de Penedono e o tratamento  $\text{PCa}_4$  apresentou um comportamento intermédio entre MO e  $\text{PCa}_{12}$ . Em todos os tratamento os valores de  $\text{P}_2\text{O}_5$  obtidos após a colheita das plantas em solo sem plantas e solo com plantas mostraram-se relativamente semelhantes, o que significa que a presença das mesmas não influenciou o teor em fósforo assimilável do solo, ou seja não parece ter existido uma grande assimilação de fósforo pelas plantas.

O teor em  $\text{P}_2\text{O}_5$  do solo de Pegões, inicialmente de  $48 \text{ mg kg}^{-1}$ , subiu nos solos com salsa ( $83,11 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e diminuiu nos solos com tomateiros ( $32,00 \text{ mg kg}^{-1}$ ) evidenciando uma maior necessidade em fósforo nestes últimos.



**Figura 19** – Teor de  $\text{P}_2\text{O}_5$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas.

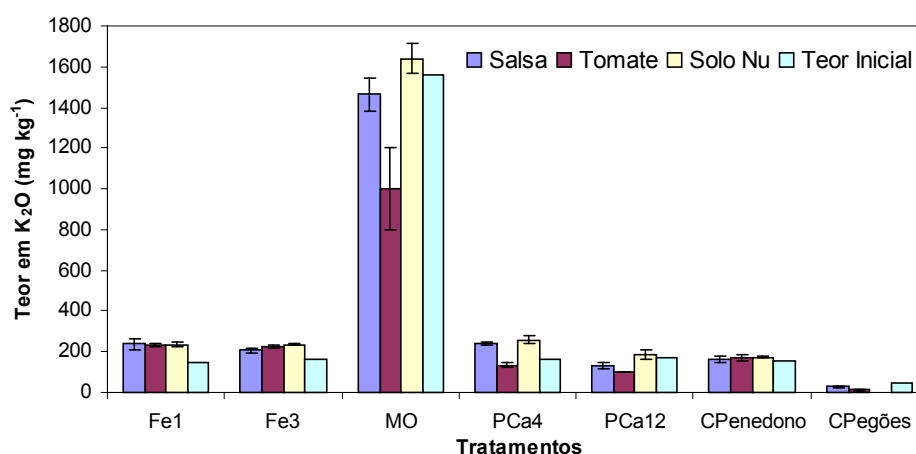
### 3.3 Potássio assimilável

Os teores de  $\text{K}_2\text{O}$  determinados após a colheita das plantas foram superiores aos determinados após a mistura dos aditivos no solo, exceptuando nos solos com tomateiros e salsa dos tratamentos MO e  $\text{PCa}_{12}$  e no solo com tomateiros de  $\text{PCa}_4$ . Esta diminuição no

potássio assimilável dos solos estará relacionada com o maior crescimento que se verificou nas plantas correspondentes (com exceção no caso da salsa no tratamento MO que não se desenvolveu). O tratamento com matéria orgânica revelou-se muito diferente dos restantes apresentando-se como uma fonte significativa de potássio para o solo original de Penedono. Os solos do tratamento MO registaram teores de  $K_2O$  muito mais elevados do que todos os outros tratamentos em solo nu ( $1638 \text{ mg kg}^{-1}$ ), solo com tomateiros ( $1002 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e solo com salsa ( $1464,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Fig. 20).

Os tratamentos com menores teores em  $K_2O$  foram  $C_{PENEDONO}$  em solo nu ( $174 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e solo com salsa ( $164,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e  $PCa_{12}$  no solo com tomateiros ( $100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) cujo reduzido valor em  $K_2O$  pode ser explicado pela absorção de potássio pelos mesmos. Assim, estes dois tratamentos mostraram-se semelhantes entre si, tal como os tratamentos com óxidos de ferro para ambos os níveis com  $PCa_4$ . As diferenças relativamente ao teor em potássio assimilável no solo entre as duas plantas não foi significativa mas, relativamente a solo nu, existiu uma diminuição significativa no teor deste nutriente nos solos com tomateiros dos tratamentos MO,  $PCa_4$  e  $PCa_{12}$  devido ao crescimento destas plantas.

Em  $C_{PEGÕES}$  o teor em potássio diminuiu bastante relativamente ao teor inicial de  $K_2O$  ( $50 \text{ mg kg}^{-1}$ ) nos vasos de tomateiro ( $28,40 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e salsa, atingindo menos de metade do valor inicial nos últimos ( $14,20 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Desta forma, ocorreu uma grande assimilação de potássio pelas duas espécies.



**Figura 20** – Teor de  $K_2O$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas.

### 3.4 Determinação do teor em Carbono Orgânico

Comparativamente aos teores de carbono orgânico ( $C_{ORGÂNICO}$ ) antes do início da sementeira/plantação ocorreu um pequeno decréscimo no solo com tomateiros e no solo com salsa após a colheita das plantas, possivelmente devido à mineralização da matéria

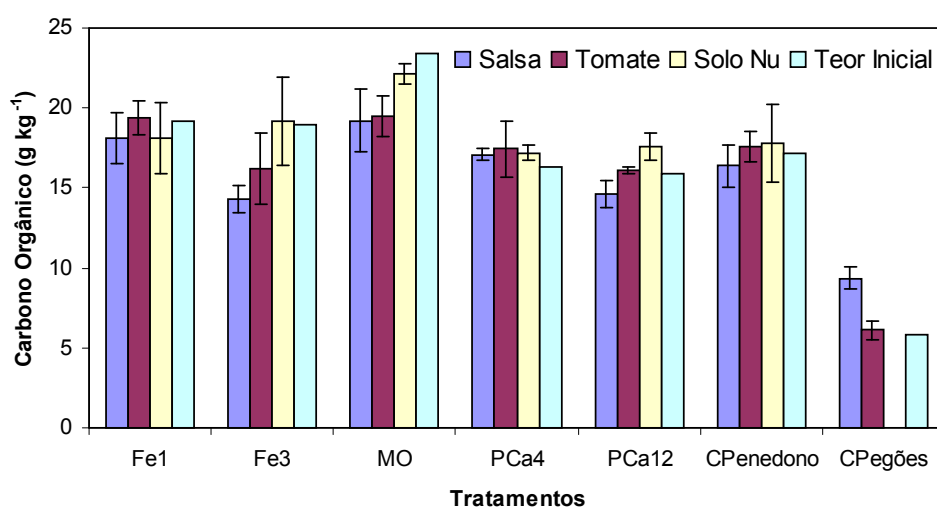


orgânica, enquanto que em solo nu os valores iniciais de  $C_{\text{ORGÂNICO}}$  não sofreram grandes alterações.

Como seria de esperar, os teores mais elevados de  $C_{\text{ORGÂNICO}}$  determinados correspondem ao tratamento à base de matéria orgânica tanto em solo nu, como nos solos com tomateiro e salsa (respectivamente, de 22,14, 19,51 e 19,20 g kg<sup>-1</sup>) (Fig. 21).

Em solo nu o teor em  $C_{\text{ORGÂNICO}}$  mais baixo foi obtido em PCa<sub>4</sub> (17,17 g kg<sup>-1</sup>) e apenas o tratamento MO se mostrou relativamente diferente dos restantes. Os solos dos vasos com tomateiros obtiveram o valor mais baixo em  $C_{\text{ORGÂNICO}}$  no tratamento de PCa<sub>12</sub> (16,08 g kg<sup>-1</sup>) que apresentou uma descida significativa no seu teor em  $C_{\text{ORGÂNICO}}$  relativamente a  $C_{\text{PENEDONO}}$ . Todos os outros tratamentos se revelaram estatisticamente semelhantes. Também comparativamente ao solo nu, apenas em PCa<sub>12</sub> a descida em  $C_{\text{ORGÂNICO}}$  se mostrou significativa. Relativamente à salsa o menor valor de  $C_{\text{ORGÂNICO}}$  foi registado em Fe<sub>3</sub> (14,28 g kg<sup>-1</sup>) sendo este o único tratamento relativamente diferente dos outros. Ao comparar os valores de  $C_{\text{ORGÂNICO}}$  obtidos em solo nu e nos solos dos vasos com salsa foi possível constatar uma diminuição significativa nos tratamentos Fe<sub>3</sub>, MO e PCa<sub>12</sub>.

No solo não contaminado de Pegões, pobre em  $C_{\text{ORGÂNICO}}$ , verificou-se uma subida do seu teor que passou dos iniciais 5,8 g kg<sup>-1</sup> para 9,3 g kg<sup>-1</sup> nos solos correspondentes aos tomateiros e 6,1 g kg<sup>-1</sup> nos solos com salsa.



**Figura 21** – Teor em carbono orgânico nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas.

### 3.5 Azoto orgânico e mineral

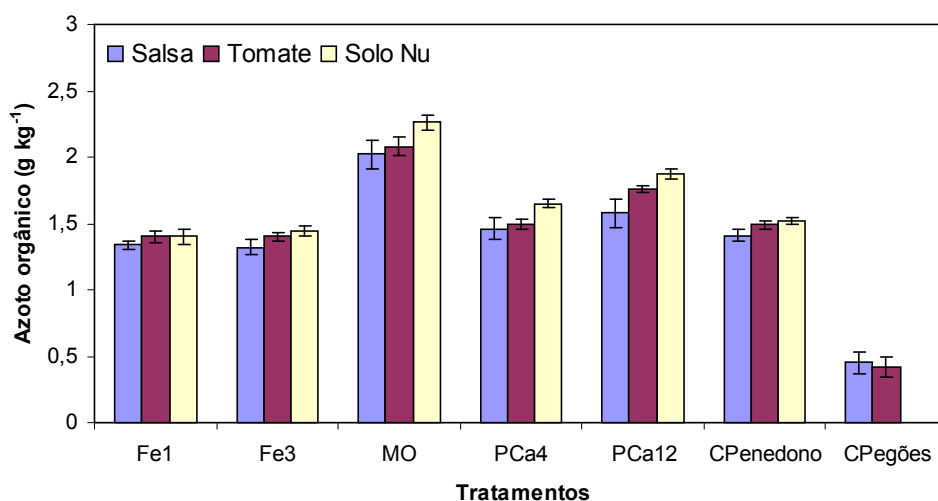
De acordo com Varennes (2003) a fracção orgânica do azoto ( $N_{\text{ORGÂNICO}}$ ) corresponde a cerca de 95% do azoto total dos solos e por ano apenas 1 a 3% será mineralizado. Os teores de  $N_{\text{ORGÂNICO}}$  mais elevados foram obtidos no tratamento à base de



matéria orgânica tanto em solo nu ( $2,02 \text{ g kg}^{-1}$ ), como no solo com tomateiros ( $2,08 \text{ g kg}^{-1}$ ) e no solo com salsa ( $2,26 \text{ g kg}^{-1}$ ) sendo este tratamento estatisticamente diferente de todos os outros (Fig. 22).

Os valores de  $N_{\text{ORGÂNICO}}$  mais baixos em solo nu obtiveram-se em  $\text{Fe}_1$  ( $1,40 \text{ g kg}^{-1}$ ), no solo com salsa em  $\text{Fe}_3$  ( $1,32 \text{ g kg}^{-1}$ ) e no solo com tomateiros ambos tiveram o valor mais baixo ( $1,40 \text{ g kg}^{-1}$ ). A análise estatística revelou que estes dois tratamentos e  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  foram semelhantes. Ambos os tratamentos à base de fosfatos ( $\text{PCa}_4$  e  $\text{PCa}_{12}$ ) apresentaram um comportamento relativamente semelhante entre si e intermédio relativamente aos anteriores.

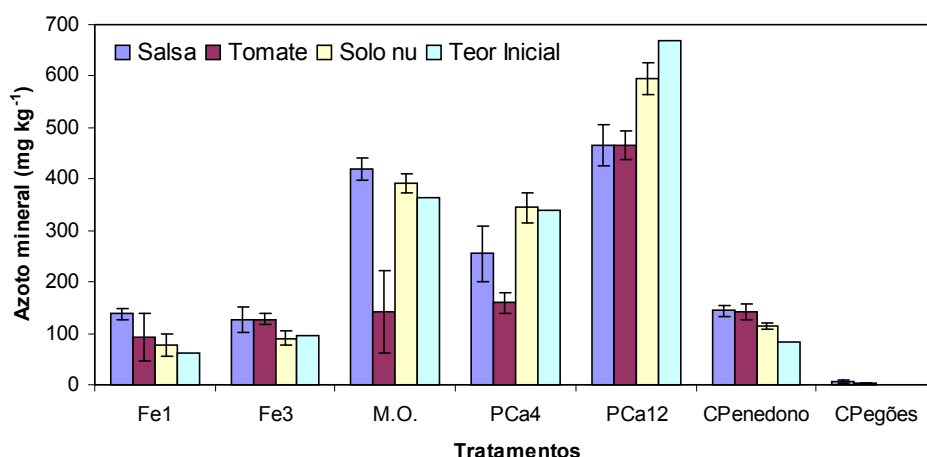
Tanto em solo com tomateiros, quanto em solo com salsa, foi visível uma diminuição relativamente significativa do teor de  $N_{\text{ORGÂNICO}}$  quando comparado com o solo sem planta em MO,  $\text{PCa}_4$  e  $\text{PCa}_{12}$ . Este facto evidencia uma maior mineralização do azoto orgânico quando existem plantas no solo para que as suas necessidades nutritivas neste elemento possam ser satisfeitas.



**Figura 22** – Teores de  $N_{\text{ORGÂNICO}}$  ( $\text{g kg}^{-1}$ ) nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas.

O azoto mineral ( $N_{\text{MINERAL}}$ ) do solo diz respeito à fracção amoniacal e à fracção nítrica sendo que, esta última corresponde à forma de azoto mineral em maior teor na solução do solo e a que está directamente relacionada com a nutrição das plantas (Varennnes, 2003). Os maiores teores em  $N_{\text{MINERAL}}$  foram registados no tratamento de  $\text{PCa}_{12}$  em solo nu ( $594,90 \text{ mg kg}^{-1}$ ), solo com tomateiros ( $465,03 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e solo com salsa ( $465,35 \text{ mg kg}^{-1}$ ), sendo este tratamento estatisticamente diferente dos restantes. Os teores em  $N_{\text{MINERAL}}$  mais baixos verificaram-se em  $\text{Fe}_1$  ( $77,82 \text{ mg kg}^{-1}$  em solo nu e  $93,21 \text{ mg kg}^{-1}$  no solo com tomateiros) e em  $\text{Fe}_3$  ( $127,25 \text{ mg kg}^{-1}$  no solo com salsa) que são semelhantes em termos estatísticos e apresentam algumas características de  $\text{C}_{\text{PENEDONO}}$  (Fig. 23).

Os três tratamentos anteriores não apresentam diferenças significativas quanto ao seu teor em  $N_{\text{MINERAL}}$  entre o solo sem plantas e os solos com plantas. No entanto, em MO e PCa<sub>4</sub> o solo com tomateiros apresentou teores em  $N_{\text{MINERAL}}$  muito inferiores relativamente ao solo nu e solo com salsa tendo existido diferenças significativas para o mesmo aditivo. Em PCa<sub>12</sub> ambos os solos com plantas se comportaram de forma semelhante mas diferente do solo sem planta. Assim, pode afirmar-se que os solos correspondentes ao maior crescimento e desenvolvimento das plantas (tomate e salsa) foram aqueles cujo teor em  $N_{\text{MINERAL}}$  diminuiu mais comparativamente ao solo sem planta.



**Figura 23** – Teores de  $N_{\text{MINERAL}}$  (mg kg<sup>-1</sup>) nos diferentes tratamentos.

## 4. ACTIVIDADE ENZIMÁTICA

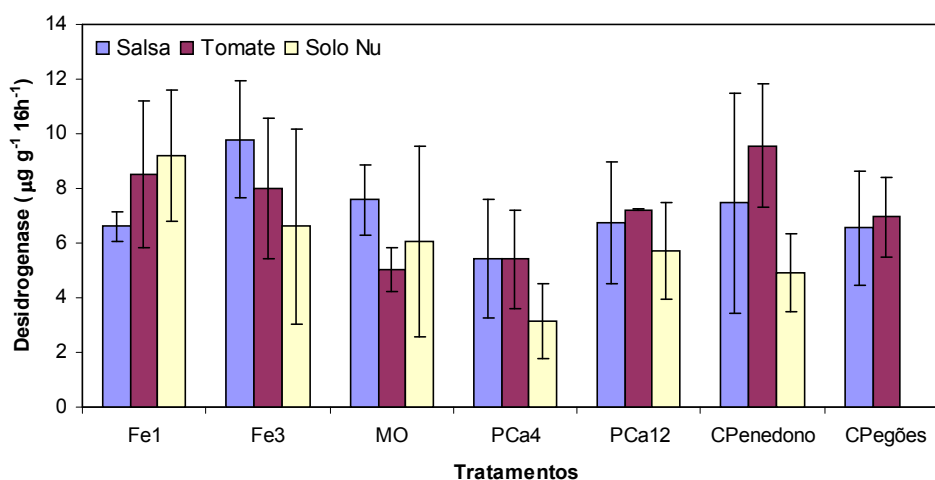
### 4.1 Desidrogenase

Em termos estatísticos, a actividade da desidrogenase (expressa em  $\mu\text{g TPF}$  por g matéria seca em 16h), não mostrou uma grande variação entre os diferentes tratamentos adicionados ao solo (Fig. 24). Com excepção do solo nu do tratamento PCa<sub>4</sub>, que registou a menor actividade desta enzima, todos os outros resultados evidenciaram algumas semelhanças entre si, sendo alguns idênticos.

Assim, em solo nu o menor valor foi obtido em PCa<sub>4</sub> ( $3,13 \mu\text{g g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ ) enquanto que, a maior actividade da desidrogenase foi verificada em Fe<sub>1</sub> ( $9,21 \mu\text{g g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ ). Estes dois tratamentos mostraram-se estatisticamente diferentes entre si mas os restantes tratamentos são semelhantes e apresentam características intermédias de ambos. Assim, pode afirmar-se que apenas as concentrações mais baixas de fosfatos de cálcio e óxidos de ferro tiveram um efeito significativo na actividade da desidrogenase em solo nu. Comparando com o solo original contaminado verificou-se uma diminuição na actividade da

enzima com o aditivo PCa<sub>4</sub>, por outro lado um aumento na actividade da desidrogenase ao adicionar Fe<sub>1</sub>.

O solo original contaminado onde cresceram os tomateiros mostrou uma maior actividade da desidrogenase ( $9,57 \mu\text{g g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ ), sendo considerado idêntico a Fe<sub>1</sub>, enquanto que nos solos correspondentes ao tratamento MO com tomateiros ocorreu a maior diminuição da actividade destas enzimas ( $5,02 \mu\text{g g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ ). Ao comparar com solo nu verificou-se que a presença das plantas de tomateiro no solo apenas contribuiu para o aumento significativo da actividade da desidrogenase em C<sub>PENEDONO</sub>, sendo que, nos outros tratamentos a actividade da enzima manteve-se semelhante à do solo nu.



**Figura 24** – Actividade da desidrogenase nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas.

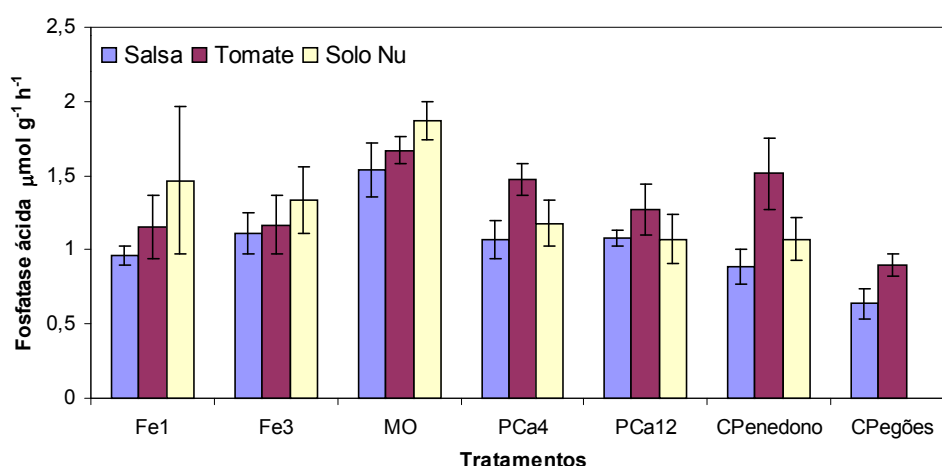
Nos solos com salsa a maior actividade da desidrogenase voltou a estar associada aos solos com óxidos de ferro, neste caso, Fe<sub>3</sub> ( $9,80 \mu\text{g g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ ) e a menor actividade relacionada com PCa<sub>4</sub> ( $5,43 \mu\text{g g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ ). A existência da salsa não parece ter induzido alterações significativas na actividade desta enzima comparativamente ao solo sem plantas.

Embora Tejada *et al.* (2008b) e Yang *et al.* (2008) afirmem que a actividade da desidrogenase sofre melhorias quando na presença de matéria orgânica e fósforo, neste trabalho verificou-se que os tratamentos à base de óxidos de ferro apresentaram uma maior capacidade para estimularem esta enzima do que os tratamentos MO, PCa<sub>4</sub> e PCa<sub>12</sub>. Este facto pode estar relacionado com a menor disponibilidade de arsénio nestes tratamentos. De notar que os valores apresentados por aqueles autores se encontram na ordem das dezenas e centenas, enquanto que os valores obtidos neste estudo estão na ordem das unidades, o que demonstra que a actividade microbiana do solo de Penedono se encontrava reduzida.

No controlo de solo não contaminado a actividade enzimática dos solos com tomateiro e dos solos com salsa foi semelhante nos dois casos ( $6,95$  e  $6,55 \mu\text{g g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ ).

## 4.2 Fosfatase ácida

Os valores obtidos quanto à actividade da fosfatase ácida (expressos em  $\mu\text{mol p-nitrofenol por g matéria seca em 1h}$ ) foram bastante variáveis entre tratamentos e dentro do mesmo tratamento (Fig. 25). Contudo, esta enzima apresentou maiores actividades ao aplicar-se matéria orgânica ao solo e este aditivo mostrou-se diferente dos outros em termos estatísticos. Tal facto verificou-se em solo nu ( $1,869 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), em solo com tomateiros ( $1,671 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) e em solo com salsa ( $1,535 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) que foram semelhantes entre si, em termos estatísticos. Estes resultados vão de encontro aos obtidos por alguns investigadores (Saha *et al.*, 2008; Tejada *et al.*, 2008b; Yang *et al.*, 2008) que verificaram um aumento da actividade da fosfatase na presença de matéria orgânica em solos com culturas.



**Figura 25** – Actividade da fosfatase ácida nos diferentes tratamentos após término do ensaio e colheita das plantas.

Em solo nu verificou-se uma maior actividade desta enzima em todos os aditivos aplicados pois a actividade mais baixa foi registada em  $C_{\text{PENEDONO}}$  ( $1,070 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) mas estes aumento apenas foi significativo no tratamento MO visto todos os outros tratamentos serem estatisticamente semelhantes.

No caso dos solos com tomateiros, excluindo MO onde a actividade da fosfatase foi superior, ocorreu uma diminuição da actividade da enzima em todos os tratamentos, comparativamente ao controlo contaminado sem aditivos. Mais uma vez estas variações não se mostraram significativas. O valor mais baixo foi obtido em  $\text{Fe}_1$  ( $1,154 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). Verificou-se um aumento significativo na actividade da fosfatase ácida na presença de tomateiros em  $\text{PCa}_4$  e em  $C_{\text{PENEDONO}}$ .

Nos solos com salsa o menor valor determinado correspondeu a  $C_{\text{PENEDONO}}$  ( $0,887 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), mas os aditivos que parecem ter um efeito positivo na actividade da enzima na

presença desta planta foram MO e PCa<sub>12</sub>. O comportamento da matéria orgânica como aditivo foi superior e diferente de todos os outros que se mostraram semelhantes entre si. Quando em comparação ao solo sem planta verificou-se que a presença da salsa foi significativamente negativa na actividade das fosfatases no tratamento MO. Embora alguns autores (Tejada *et al.*, 2008b; Yang *et al.*, 2008) refiram o aumento da actividade das fosfatases na presença de fósforo, os solos dos tratamentos com maiores teores neste elemento (PCa<sub>4</sub> e PCa<sub>12</sub>) não apresentaram variações significativas na actividade da enzima. Este facto pode estar relacionado com a maior disponibilidade de arsénio nestes solos que, segundo Lorenz *et al.* (2006) e Kumpiene *et al.* (2006), induz a diminuição da actividade das fosfatases.

## 5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ARSÉNIO DAS PLANTAS

O teor médio de arsénio contido na parte aérea das plantas é, normalmente, inferior a 10 mg kg<sup>-1</sup> (Varennnes, 2003) contudo, tanto os tomateiros como a salsa, que cresceram no solo contaminado de Penedono, registaram teores de arsénio superiores a este valor. Ambas as plantas demonstraram comportamentos semelhantes quanto à distribuição de arsénio pelas suas partes constituintes e quanto aos tratamentos que apresentaram teores mais elevados e mais baixos do metalóide nas plantas (Quadro 12). Neste ponto, contrariamente a outros resultados apresentados anteriormente, a parte aérea dos tomateiros inclui apenas os caules e folhas dos mesmos sendo os frutos analisados à parte.

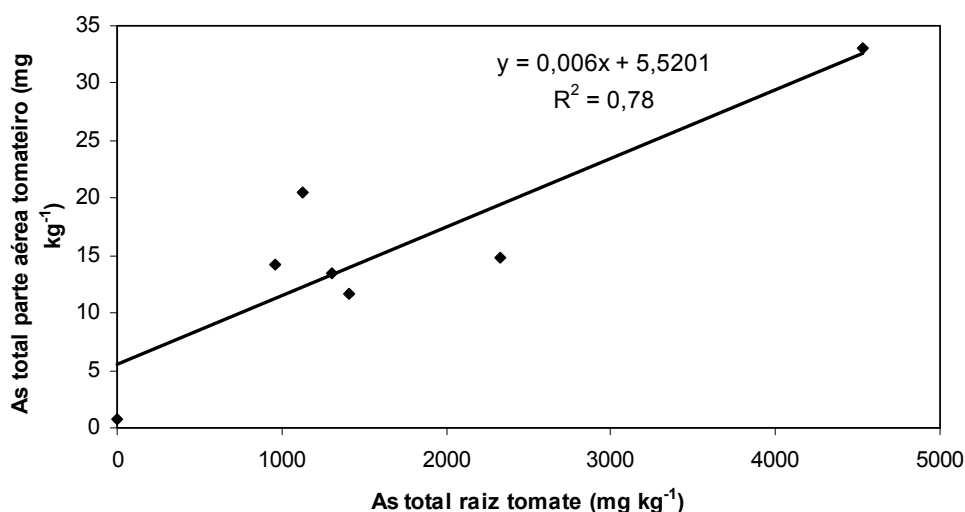
**Quadro 12** – Concentrações médias de arsénio na raiz e na parte aérea do tomateiro (colheita final) e da salsa

Tratamento	As (mg kg <sup>-1</sup> ) Tomateiro		As (mg kg <sup>-1</sup> ) Salsa	
	Raiz	Parte aérea	Raiz	Parte aérea
Fe <sub>1</sub>	1309,6 <sup>ef</sup> (453,0)	13,5 <sup>de</sup> (3,3)	972,4 <sup>fg</sup> (59,9)	15,0 <sup>de</sup> (0,0)
Fe <sub>3</sub>	955,5 <sup>fg</sup> (59,6)	14,2 <sup>de</sup> (5,5)	876,9 <sup>g</sup> (44,3)	11,5 <sup>e</sup> (0,4)
MO	1409,0 <sup>de</sup> (159,6)	11,6 <sup>e</sup> (1,6)	1794,7 <sup>cd</sup> (65,4)	38,6 <sup>bc</sup> (5,4)
PCa <sub>4</sub>	2328,1 <sup>b</sup> (200,9)	14,8 <sup>de</sup> (2,2)	2114,2 <sup>bc</sup> (44,0)	47,3 <sup>b</sup> (2,7)
PCa <sub>12</sub>	4532,5 <sup>a</sup> (396,8)	33,0 <sup>bcd</sup> (14,3)	1857,8 <sup>c</sup> (238,3)	69,0 <sup>a</sup> (6,2)
C <sub>PENEDONO</sub>	1128,6 <sup>efg</sup> (85,0)	20,5 <sup>cde</sup> (6,0)	932,5 <sup>fg</sup> (10,7)	52,7 <sup>ab</sup> (28,7)
C <sub>PEGÕES</sub>	3,1 <sup>h</sup> (0,4)	0,7 <sup>e</sup> (0,2)	5,0 <sup>h</sup> (1,1)	0,13 <sup>e</sup> (0,07)

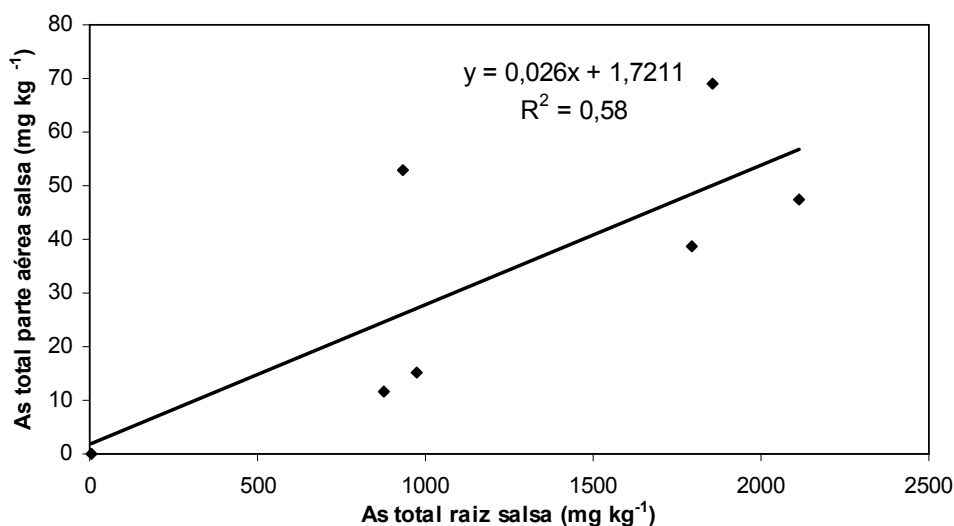
Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis

Assim, quanto à repartição do arsénio na parte radicular (PR) e parte aérea (PA),

ambas as espécies parecem adoptar um comportamento semelhante ao indicado por vários autores (Meharg e Hartley-Whitaker, 2002; Smith *et al.*, 2008). Isto é, os resultados obtidos indicam uma maior concentração de arsénio nas raízes, comparativamente à PA. No entanto, a correlação entre a concentração de arsénio na raiz e a concentração de arsénio na PA é estatisticamente mais forte no caso do tomateiro. Nas Figuras 26 e 27 pode verificar-se que existe uma relação linear entre estas concentrações nesta planta ( $R^2=0,78$ ) mas na salsa a relação linear é mais fraca ( $R^2=0,58$ ). Por outro lado, o comportamento do tomateiro parece seguir mais fortemente uma relação do tipo potência ( $y=0,41x^{0,50}$ ;  $R^2=0,96$ ).



**Figura 26** – Relação entre o teor em arsénio na raiz e na parte aérea do tomateiro.



**Figura 27** – Relação entre o teor em arsénio na raiz e na parte aérea da salsa.

Foi determinada a relação entre os teores de arsénio na raiz e na parte aérea para as duas espécies através do quociente entre a concentração de arsénio na parte aérea e a concentração total de arsénio absorvida pela planta. Esta relação é relativamente inferior na salsa (Quadro 13) o que indica uma maior translocação de arsénio para a parte aérea nesta

planta relativamente ao tomateiro. No entanto, a concentração de arsénio nas raízes da salsa continua a ser bastante superior à concentração na parte aérea ao contrário do que afirmam Bronkowska *et al.* (2008) que concluíram que as folhas de salsa apresentam maior quantidade de arsénio do que as raízes. A maior tendência apresentada pelo tomateiro para reter o metalóide na raiz também foi verificada por Carbonell-Barrachina *et al.* (1997), Miteva (2002) e Tlustoš *et al.* (2006).

**Quadro 13** – Relação percentual entre a concentração de arsénio na raiz e na parte aérea no tomateiro e na salsa

Tratamentos	Tomateiro		Salsa	
	PR (%)	PA (%)	PR (%)	PA (%)
Fe <sub>1</sub>	99	1	98	2
Fe <sub>3</sub>	99	1	99	1
MO	99	1	98	2
PCa <sub>4</sub>	99	1	98	2
PCa <sub>12</sub>	99	1	96	4
C <sub>PENEDONO</sub>	98	2	95	5

Ao efectuar o quociente entre a concentração de arsénio total na parte aérea das plantas e a concentração total de arsénio no solo foi determinado o coeficiente de transferência de arsénio (Quadro 14). Para um resultado superior a um, significa que se trata de uma planta acumuladora de arsénio (Abreu *et al.*, 2008). O mesmo coeficiente foi determinado por Hartley e Lepp (2008), também relativamente à acumulação de arsénio no tomateiro, que obtiveram alguns resultados semelhantes aos determinados neste estudo em termos de ordem de grandeza.

Nenhuma das plantas se comportou como acumuladora de arsénio visto todos os valores serem bastante inferiores a um. Contudo, a salsa contém maiores concentrações de arsénio na parte aérea, relativamente ao tomateiro, nas plantas dos tratamentos MO, PCa<sub>4</sub>, PCa<sub>12</sub> e C<sub>PENEDONO</sub>. Quanto aos tratamentos, ambas as espécies, em comparação às plantas de C<sub>PENEDONO</sub>, apresentaram menores coeficientes de transferência em todos os aditivos excepto em PCa<sub>12</sub>. Desta forma, a maior concentração de fosfato de cálcio aplicada parece induzir uma maior concentração de arsénio na parte aérea das plantas. Tao *et al.* (2006) relacionaram positivamente a existência de maior concentração de fosfato no meio com maiores concentrações de arsénio na raiz e parte aérea do milho. Tal relação parece verificar-se também relativamente à parte aérea do tomateiro e da salsa considerando o facto dos coeficientes de transferência no tratamento com PCa<sub>12</sub> serem os mais elevados.

**Quadro 14** – Coeficiente de transferência de arsénio do solo para a parte aérea das plantas de tomateiro e salsa

Tratamentos	Coeficiente de transferência*	
	Tomateiro	Salsa
Fe <sub>1</sub>	0,012	0,013
Fe <sub>3</sub>	0,012	0,010
MO	0,010	0,033
PCa <sub>4</sub>	0,013	0,041
PCa <sub>12</sub>	0,028	0,059
C <sub>PENEDONO</sub>	0,018	0,045

\*[As na parte aérea da planta]/[As total no solo]

No caso do tomateiro os tratamentos não se mostraram muito diferentes entre si mas, relativamente à salsa, os tratamentos à base de óxidos de ferro demonstraram uma maior redução no teor de arsénio translocado para a parte aérea destas plantas. Nas duas plantas o tratamento com PCa<sub>12</sub> registou os maiores teores em arsénio (PR e PA) o que pode derivar do facto de existir uma afinidade entre o arsénio e o fósforo. Após a adição dos fosfatos de cálcio utilizados neste estudo verificou-se, relativamente ao solo do controlo contaminado (10,7 mg kg<sup>-1</sup>), um aumento na fracção de arsénio disponível de cerca de duas vezes em PCa<sub>4</sub> (21,9 mg kg<sup>-1</sup>) e quatro vezes em PCa<sub>12</sub> (41,3 mg kg<sup>-1</sup>). Esta observação reforça as conclusões de alguns autores como Grossl *et al.* (2004) e Tao *et al.* (2006) que demonstraram que a presença de fosfatos no meio faz aumentar a concentração de arsénio disponível no solo tornando-o mais facilmente assimilável pelas plantas. A adição de matéria orgânica ao solo também aumentou a disponibilidade do metalóide em cerca de duas vezes, facto que já foi relatado por Wang e Mulligan (2006).

No presente estudo, a maior concentração de arsénio disponível no solo ocorreu em PCa<sub>12</sub>, sendo o crescimento dos tomateiros, neste caso muito superior ao observado em C<sub>PENEDONO</sub>. No entanto, as plantas de PCa<sub>12</sub> apresentavam já alguma fragilidade, nomeadamente murchidão das folhas, o que pode significar que aquela concentração de arsénio poderia ser excessiva. Em parte, estes resultados contrariam os que foram apresentados por Miteva (2002) ao referir que concentrações de arsénio disponível no solo de 15 mg kg<sup>-1</sup> propiciam um aumento no crescimento dos tomateiros, enquanto que, concentrações superiores a 50 mg kg<sup>-1</sup> teriam um efeito contrário. Na realidade, os tomateiros cresceram melhor no solo com maior disponibilidade de arsénio, comparativamente ao controlo sem aditivos. Estes resultados foram visíveis nos tratamentos MO, PCa<sub>4</sub> e PCa<sub>12</sub>, com maiores crescimentos e desenvolvimentos nas plantas correspondentes a MO. Mas este desenvolvimento também pode estar relacionado com as maiores concentrações de fósforo presentes na parte aérea destes tomateiros.



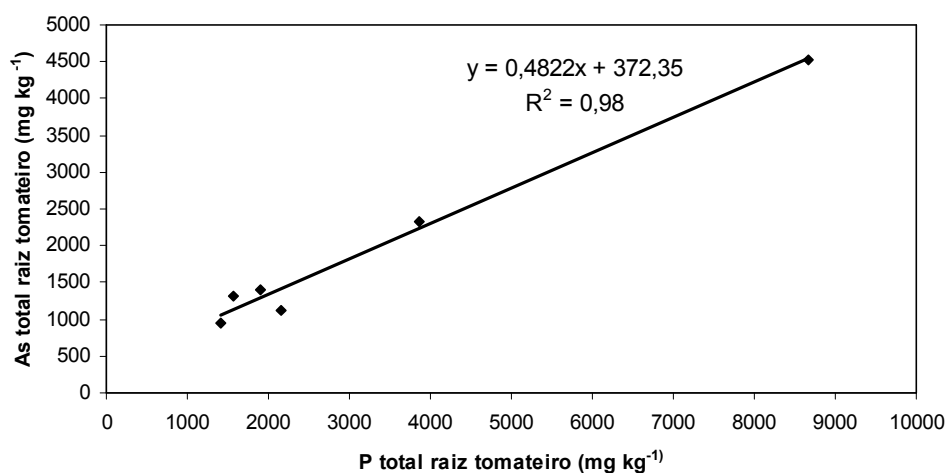
Segundo Burló *et al.* (1999) o aumento do teor de arsênio em solução leva a uma maior absorção de fósforo pelo tomateiro o que se verificou no estudo em discussão (Quadro 15). Os mesmos autores afirmam que, ao assimilarem arsênio em vez do fósforo, o sistema energético das plantas torna-se ineficiente devido à deficiência nutritiva no macronutriente. Desta forma, as plantas tendem a aumentar a absorção de fósforo, o que também faz aumentar a assimilação de arsênio, visto ambos os elementos serem absorvidos pelo sistema de transporte de fósforo (Meharg e Macnair, 1990).

**Quadro 15** – Concentrações médias de fósforo na raiz e na parte aérea do tomateiro (colheita final) e da salsa

Tratamento	P (mg kg <sup>-1</sup> ) Tomateiro		P (mg kg <sup>-1</sup> ) Salsa	
	Raiz	Parte aérea	Raiz	Parte aérea
Fe <sub>1</sub>	1578,2 <sup>g</sup> (154,1)	1296,8 <sup>c</sup> (236,7)	3513,2 <sup>e</sup> (258,4)	1454,7 <sup>c</sup> (64,5)
Fe <sub>3</sub>	1407,0 <sup>g</sup> (31,1)	1228,9 <sup>c</sup> (176,4)	3005,8 <sup>ef</sup> (48,6)	1319,6 <sup>c</sup> (3,1)
MO	1895,8 <sup>fg</sup> (149,9)	1409,0 <sup>c</sup> (210,6)	4963,9 <sup>cd</sup> (261,9)	1699,2 <sup>c</sup> (37,2)
PCa <sub>4</sub>	3860,6 <sup>de</sup> (407,5)	2713,9 <sup>c</sup> (504,0)	6228,0 <sup>b</sup> (189,4)	2305,9 <sup>c</sup> (60,3)
PCa <sub>12</sub>	8658,1 <sup>a</sup> (375,6)	9511,5 <sup>b</sup> (1953,9)	9710,3 <sup>a</sup> (1176,5)	7558,4 <sup>b</sup> (575,9)
C <sub>PENEDONO</sub>	2152,9 <sup>fg</sup> (174,4)	1298,0 <sup>c</sup> (76,4)	2788,8 <sup>ef</sup> (64,8)	7662,6 <sup>b</sup> (4485,7)
C <sub>PEGÕES</sub>	5175,8 <sup>bc</sup> (1096,0)	15268,1 <sup>a</sup> (1427,9)	9639,1 <sup>a</sup> (968,8)	9819,7 <sup>b</sup> (2509,1)

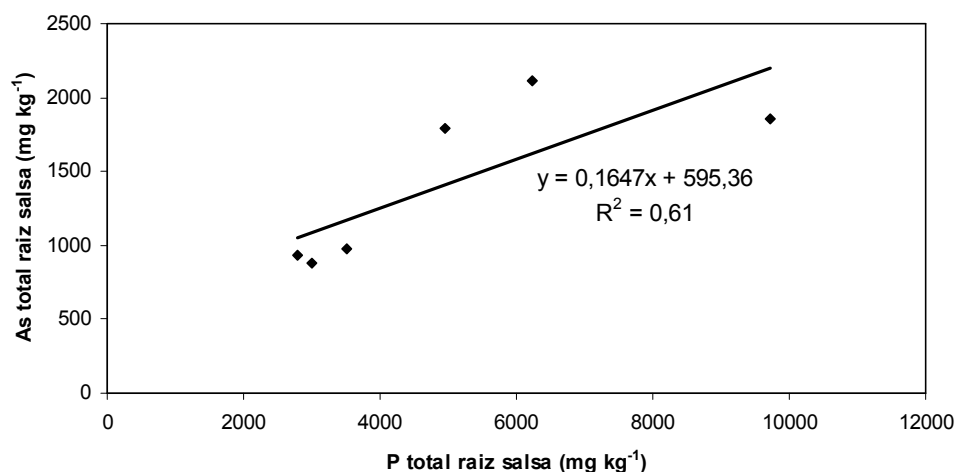
Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

Neste trabalho foi observada uma forte relação linear no solo contaminado entre a absorção de arsênio e fósforo pelas raízes do tomateiro ( $R^2=0,98$ ), enquanto que a mesma relação na salsa se mostrou mais fraca ( $R^2=0,61$ ) (Fig. 28 e Fig. 29), embora PCa<sub>12</sub> se tenha revelado o melhor aditivo quanto ao crescimento da salsa.



**Figura 28** – Relação entre a concentração total de arsênio e a concentração total de fósforo na raiz do tomateiro.

Embora Smith *et al.* (2008) tenham referido que a presença de fósforo leva à retenção de arsénio nas raízes, diminuindo a sua translocação para a parte aérea, neste trabalho verificou-se o oposto. No tratamento PCa<sub>12</sub> onde se registaram as maiores concentrações de fósforo nas raízes de tomateiro e salsa (8658,1 e 9710,3 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente) também se encontraram as maiores concentrações de arsénio na parte aérea de ambas as plantas (33,0 e 69,0 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente).



**Figura 29** – Relação entre a concentração total de arsénio e a concentração total de fósforo na raiz de salsa.

Burló *et al.* (1999) e Geng *et al.* (2006) referem, ainda em relação ao fósforo, que se a concentração do macronutriente à disposição das plantas for suficiente, a assimilação do arsénio será reduzida. O teor em fósforo assimilável do solo em estudo foi classificado como muito alto, admitindo-se assim, que as necessidades das plantas relativamente a este macronutriente estariam satisfeitas. No entanto, parece ter existido alguma deficiência em fósforo pois, os teores apresentados pela parte aérea dos tomateiros neste elemento, foram muito inferiores aos teores adequados (Quadro 16), com excepção de PCa<sub>12</sub>.

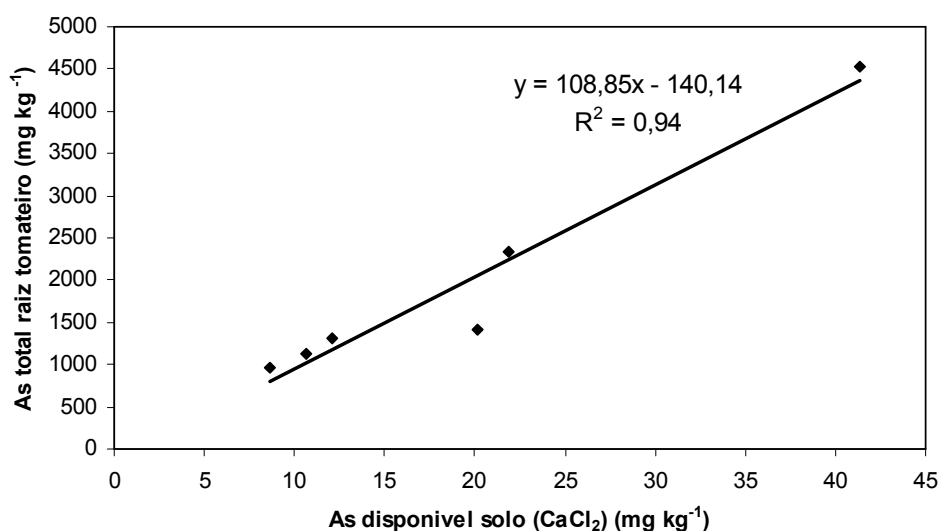
**Quadro 16** – Concentrações adequadas de alguns macronutrientes na parte aérea da cultura do tomate (adaptado de Varennes, 2003)

Macronutriente	Concentração (g kg <sup>-1</sup> )
P	4,0-6,5
K	30-60
Ca	30-40
Mg	3,5-8,0

O tratamento com a menor concentração de fosfatos (PCa<sub>4</sub>) também revelou valores elevados de arsénio nas raízes e parte aérea, embora nesta última fosse relativamente

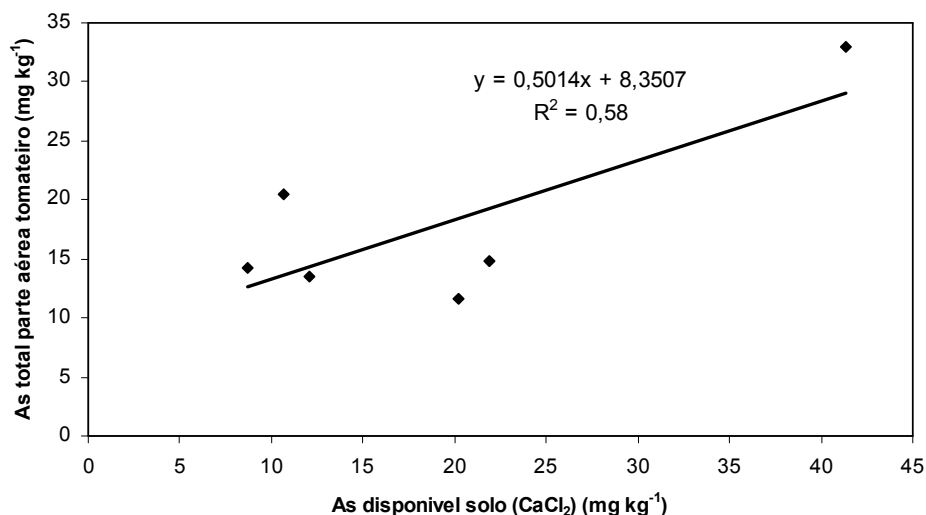
inferior a  $C_{PENEDONO}$ . Comparativamente ao controlo, o teor de arsénio nas raízes foi inferior em  $Fe_3$  o que estará relacionado com a interacção entre o metalóide e os óxidos de ferro, visto estes adsorverem o arsénio na sua superfície (Wang e Mulligan, 2006; Rahman *et al.*, 2008b). Assim, o tratamento  $Fe_3$  induziu a imobilização do arsénio, diminuindo a sua absorção pelas raízes das plantas. Contudo, o desenvolvimento de ambas as espécies, relativamente a este tratamento, foi bastante reduzido. Embora o correcto desenvolvimento da planta seja afectado pelo arsénio, Carbonell-Barrachina *et al.* (1997) mostraram que o tomateiro tem uma maior tolerância ao arsénio do que outras espécies, como, por exemplo, o feijão. Estes autores indicam que tal facto poderá dever-se à maior retenção de arsénio nas raízes do tomateiro sendo pouco translocado para a parte aérea da planta.

Chatuverdi (2006) verificou que existe uma relação linear entre a concentração de arsénio disponível no solo e as concentrações de arsénio nas raízes e PA do arroz, a qual já havia sido mencionada por Kabata-Pendias & Pendias (2001) para outras plantas. No presente estudo, foi possível demonstrar uma forte relação linear entre a concentração total de arsénio disponível no solo e a concentração de arsénio nas raízes do tomateiro ( $R^2=0,94$ ) (Fig. 30). No que diz respeito à relação entre a disponibilidade de arsénio no solo e a sua concentração na parte aérea do tomateiro pode dizer-se que esta se mostra bastante mais fraca ( $R^2=0,58$ ) (Fig. 31) tendo em conta a forte relação demonstrada relativamente à raiz.

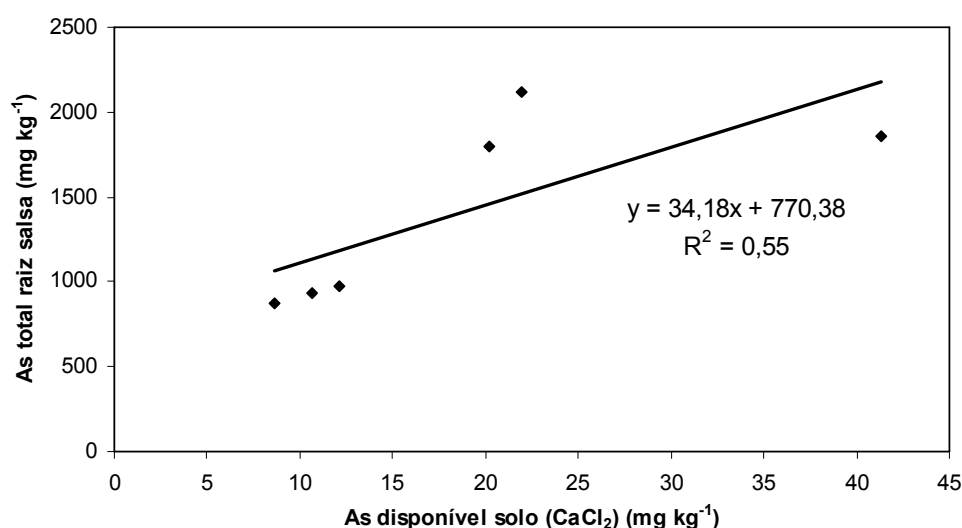


**Figura 30** – Relação entre a concentração disponível de arsénio no solo e a concentração de arsénio na raiz do tomateiro.

No caso da salsa a correlação entre a concentração de arsénio disponível no solo e a concentração de arsénio, quer nas raízes quer na parte aérea, mostrou-se bastante inferior no tomateiro ( $R^2=0,55$  e  $R^2=0,58$ , respectivamente), principalmente na raiz (Fig. 32 e Fig. 33).



**Figura 31** – Relação entre a concentração disponível de arsénio no solo e a concentração de arsénio na parte aérea do tomateiro.

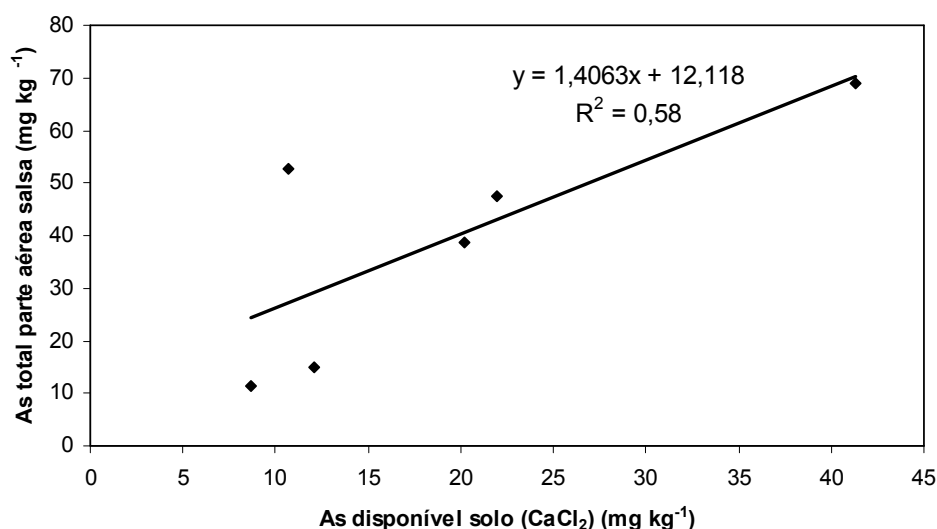


**Figura 32** – Relação entre a concentração disponível de arsénio no solo e a concentração de arsénio na raiz da salsa.

Assim, nas plantas de salsa parece não existir uma relação linear entre a disponibilidade do elemento no solo e a sua absorção pelas raízes e translocação para a parte aérea. Estes resultados demonstram diferenças no comportamento das duas espécies quanto à assimilação do arsénio e sua distribuição na planta.

Ao efectuar a determinação dos teores de arsénio na parte aérea das plantas de tomateiro, colhidas a 28 DAT, verificou-se que as concentrações do elemento eram relativamente semelhantes entre tratamentos. De facto, o único tratamento que pareceu disponibilizar maiores teores de arsénio para as plantas foi PCa<sub>4</sub>. Em comparação com o

solo original contaminado obtiveram-se menores concentrações de arsénio nas plantas de todos os outros tratamentos nesta fase de desenvolvimento.



**Figura 33** – Relação entre a concentração disponível de arsénio no solo e a concentração de arsénio na parte aérea da salsa.

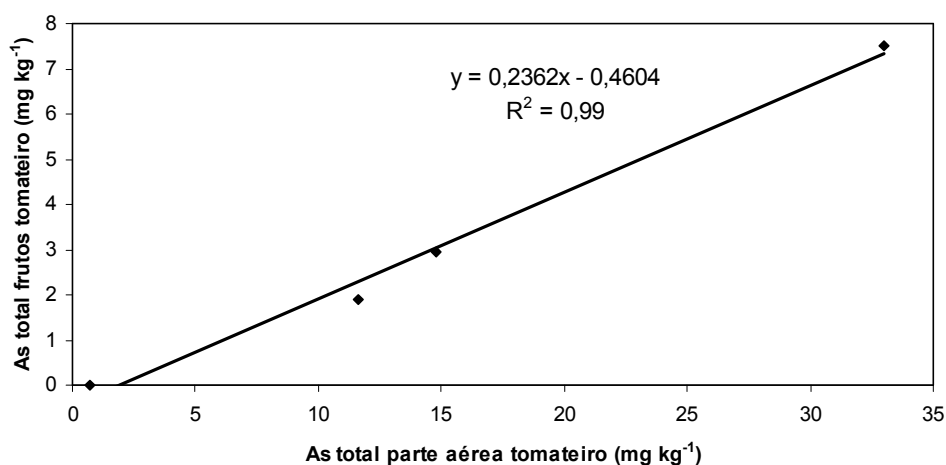
Comparando os valores de arsénio nas plantas colhidas a 28 DAT (apenas parte aérea) (Quadro17) e nos caules e folhas das plantas obtidas nas colheitas finais (Quadro 12) pode verificar-se que a variação entre os valores não foi significativa. Este facto parece indicar que os teores do elemento na parte aérea da planta não variam de acordo com as fases de desenvolvimento do tomateiro. Ao contrário do que foi relatado noutro estudo (Miteva, 2002), as plantas mais novas não parecem conter valores significativamente mais elevados do que as mais velhas. Contudo, tal como foi referido no mesmo estudo, existe uma translocação de arsénio para a parte aérea dos tomateiros desde as fases iniciais do seu desenvolvimento.

Tal como referido por Hartley e Lepp (2008) a concentração de arsénio no caule e folhas dos tomateiros foi superior àquela presente nos frutos mas foi possível estabelecer uma relação linear muito forte entre a concentração total de arsénio na parte aérea e a concentração total de arsénio nos frutos ( $R^2=0,99$ ) demonstrada na Figura 34. Desta forma, verificou-se que os frutos colhidos no tratamento de PCa<sub>12</sub> eram aqueles que continham a maior concentração de arsénio (7,5 mg kg<sup>-1</sup>), enquanto que os de MO (aditivo que registou um melhor crescimento e desenvolvimento dos tomateiros) tinham menores quantidades do elemento (1,9 mg kg<sup>-1</sup>). Os frutos de C<sub>PEGÕES</sub> não apresentavam arsénio na sua constituição (Quadro 18).

**Quadro 17** – Concentrações de As, Al, Mg, Zn e Mn na parte aérea do tomateiro (colheita parcial a 28 dias após transplante)

Tratamento	As (mg kg <sup>-1</sup> )	Al (mg kg <sup>-1</sup> )	Mg (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )
Fe <sub>1</sub>	13,3 <sup>a</sup> (2,3)	284,6 <sup>ab</sup> (19,8)	17246,3 <sup>a</sup> (1258,6)	204,5 <sup>b</sup> (13,3)	5903,2 <sup>b</sup> (273,3)
Fe <sub>3</sub>	13,5 <sup>a</sup> (3,0)	481,7 <sup>a</sup> (118,5)	19209,9 <sup>a</sup> (2338,7)	270,8 <sup>a</sup> (48,0)	7870,8 <sup>a</sup> (1002,5)
MO	14,9 <sup>c</sup> (6,3)	0,0 <sup>c</sup> (0,0)	11130,7 <sup>c</sup> (231,2)	50,7 <sup>c</sup> (13,3)	846,6 <sup>d</sup> (218,2)
PCa <sub>4</sub>	36,1 <sup>c</sup> (16,4)	176,3b <sup>c</sup> (279,2)	6927,0 <sup>d</sup> (723,6)	73,8 <sup>c</sup> (6,4)	2412,7 <sup>c</sup> (253,0)
C <sub>PENEDONO</sub>	15,7 <sup>a</sup> (2,5)	534,4 <sup>a</sup> (126,9)	14351,5 <sup>b</sup> (722,4)	183,9 <sup>b</sup> (12,1)	7134,1 <sup>a</sup> (424,5)
C <sub>PEGÕES</sub>	0,1 <sup>b</sup> (0,1)	7,3 <sup>c</sup> (7,4)	10135,0 <sup>c</sup> (1978,5)	69,2 <sup>c</sup> (23,6)	352,1 <sup>d</sup> (63,4)

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

**Figura 34** – Relação entre a concentração de arsênio na parte aérea e a concentração de arsênio nos frutos de tomateiro.**Quadro 18** – Concentração de As nos frutos do tomateiro

Tratamento	As (mg kg <sup>-1</sup> )
MO	1,9 <sup>b</sup> (1,9)
PCa <sub>4</sub>	3,0 <sup>b</sup> (1,6)
PCa <sub>12</sub>	7,5 <sup>a</sup> (3,0)
C <sub>PEGÕES</sub>	0,0 <sup>b</sup> (0,0)

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

## 6. RELAÇÃO ENTRE O TEOR DE ARSÊNIO E OUTROS ELEMENTOS NAS PLANTAS

Como os tratamentos com maior disponibilidade de arsénio apresentaram melhores resultados no crescimento dos tomateiros, a fitotoxicidade registada pelas plantas pode ter sido provocada também por outros elementos (Quadros 22 a 27 do Anexo III), cujos efeitos podem ter sido neutralizados pela adição de matéria orgânica e de fosfato de cálcio e não pelos óxidos de ferro. Entre os elementos analisados, os teores de alumínio em C<sub>PENEDONO</sub> e nos tratamentos com óxidos de ferro na parte aérea eram bastante superiores aos considerados adequados por Varennes (2003) (Quadro 18). A mesma autora refere que, em solos ácidos como o deste estudo, o alumínio pode atingir valores considerados tóxicos para as plantas, interferindo com o correcto desenvolvimento das plantas ao reduzir o seu crescimento. No entanto, nos tomateiros correspondentes a MO, PCa<sub>4</sub> e PCa<sub>12</sub> os teores de alumínio mostraram-se bastante inferiores e dentro do limite referido.

**Quadro 19** – Concentrações adequadas de macro e micronutrientes e elementos benéficos (E.B.) na parte aérea das plantas (adaptado de Varennes, 2003)

Macronutrientes	Concentração (g kg <sup>-1</sup> )	Micronutrientes	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )
Na	2-5	Mn	20-500
Mg	1-8	Fe	50-250
P	10-20	Cu	5-20
K	20-50	Zn	25-150
Ca	2-40	Al (E.B.)	50-200

Para além do alumínio, as concentrações de magnésio, zinco e manganês (Quadro 19) também se revelaram superiores às adequadas na parte aérea do tomateiro. Enquanto que as concentrações de Mg e Zn foram superiores apenas nas plantas do solo original contaminado e dos dois níveis de óxidos de ferro, relativamente a Mn só nas plantas de PCa<sub>12</sub> foi obtido um valor adequado. Em Fe<sub>1</sub>, Fe<sub>3</sub> e C<sub>PENEDONO</sub>, as concentrações de Mn absorvidas pelos tomateiros e translocadas para a PA foram entre 14 a 20 vezes superiores aos valores adequados. Deste modo, é possível que a fitotoxicidade observada nas plantas seja resultante do Al, Mg, Mn ou Zn e não apenas derivada do arsénio. Contudo, dos quatro elementos indicados, apenas o alumínio e o zinco se encontravam em concentrações excessivas em Fe<sub>1</sub>, Fe<sub>3</sub> e C<sub>PENEDONO</sub> e em concentrações dentro dos limites indicados nos outros tratamentos de solo contaminado.

Um dos sintomas de toxicidade provocado pelo zinco é o aparecimento de pequenas manchas castanhas nas folhas das plantas (Varennes, 2003) o que parece ter ocorrido nas plantas de Fe<sub>1</sub>, contudo era relativamente difícil visualizar estes sintomas nas folhas devido

à coloração arroxeada que estas apresentavam, possivelmente provocada pelo arsênio. Nas plantas correspondentes à colheita parcial as concentrações destes elementos já eram superiores às adequadas (Quadro 17).

O comportamento da salsa na absorção e translocação dos elementos revelou-se diferente do tomateiro (Quadro 19). Na parte aérea da salsa apenas o Mn e Zn estavam presentes em concentrações acima das adequadas para as plantas. Tal como no tomateiro, também parece existir uma influência negativa do zinco no desenvolvimento da salsa, pois o tratamento PCa<sub>12</sub>, que registou o maior crescimento da salsa em solo contaminado, também continha as plantas com menores concentrações de zinco na parte aérea.

**Quadro 20** – Concentrações em mg kg<sup>-1</sup> de alumínio, magnésio, zinco e manganês na parte aérea dos tomateiros e de zinco e manganês na parte aérea da salsa

Tratamento	Tomateiro				Salsa	
	Al	Mg	Zn	Mn	Zn	Mn
Fe <sub>1</sub>	416,6 <sup>bc</sup> (80,8)	16731,9 <sup>a</sup> (1992,4)	353,1 <sup>ef</sup> (37,3)	7101,1 <sup>b</sup> (1907,0)	1987,9 <sup>a</sup> (230,7)	2131,7 <sup>c</sup> (182,1)
Fe <sub>3</sub>	472,3 <sup>ab</sup> (123,2)	16666,5 <sup>a</sup> (2095,8)	429,9 <sup>de</sup> (66,0)	8055,4 <sup>b</sup> (986,0)	1377,3 <sup>b</sup> (79,8)	2479,8 <sup>c</sup> (97,6)
MO	86,1 <sup>ef</sup> (27,1)	6258,1 <sup>bcd</sup> (850,9)	57,1 <sup>g</sup> (4,8)	603,9 <sup>de</sup> (138,1)	913,8 <sup>c</sup> (57,8)	265,8 <sup>e</sup> (2,1)
PCa <sub>4</sub>	62,2 <sup>f</sup> (31,1)	2325,7 <sup>fg</sup> (231,3)	65,9 <sup>g</sup> (7,8)	1273,1 <sup>cde</sup> (91,2)	593,1 <sup>de</sup> (31,9)	1331,5 <sup>cde</sup> (62,5)
PCa <sub>12</sub>	37,0 <sup>f</sup> (15,12)	906,3 <sup>g</sup> (214,1)	35,1 <sup>g</sup> (8,7)	309,3 <sup>e</sup> (133,0)	168,5 <sup>fg</sup> (30,0)	1326,4 <sup>cde</sup> (187,8)
C <sub>PENEDONO</sub>	577,8 <sup>a</sup> (156,3)	16328,1 <sup>a</sup> (1231,0)	384,3 <sup>ef</sup> (24,2)	10135,9 <sup>a</sup> (971,7)	637,6 <sup>d</sup> (304,0)	1734,5 <sup>dc</sup> (115,1)
C <sub>PEGÕES</sub>	63,0 <sup>f</sup> (24,90)	7904,7 <sup>b</sup> (938,6)	102,2 <sup>g</sup> (4,4)	419,5 <sup>ed</sup> (74,6)	183,8 <sup>fg</sup> (79,6)	257,6 <sup>e</sup> (47,2)

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.



## CONCLUSÕES

### **Influência dos aditivos na disponibilidade de arsênio**

Relativamente à disponibilidade de arsênio concluiu-se que os óxidos de ferro podem contribuir para uma diminuição da disponibilidade do arsênio se presentes numa concentração no solo de  $3 \text{ g kg}^{-1}$ . Para uma concentração de óxidos de ferro mais baixa ( $1 \text{ g kg}^{-1}$ ) a disponibilidade do arsênio, embora pouco significativo, sofreu um ligeiro aumento. A matéria orgânica aplicada ao solo teve um comportamento semelhante aos fosfatos de cálcio na concentração mais baixa ( $4 \text{ g kg}^{-1}$ ) levando ao aumento da disponibilidade de arsênio no solo. No entanto, a maior disponibilidade do metalóide verificou-se com a aplicação da concentração mais alta de fosfatos de cálcio ( $12 \text{ g kg}^{-1}$ ).

Desta forma, pode concluir-se que a aplicação de óxidos de ferro a um solo contaminado por arsênio, numa concentração de pelo menos  $3 \text{ g kg}^{-1}$ , contribuirá para a imobilização parcial do metalóide no solo, impedindo a sua dispersão e contaminação de outros compartimentos ambientais. Por outro lado, a aplicação de concentrações elevadas de fosfatos de cálcio, ao competirem com o arsênio pelos locais de adsorção no solo, tendem a aumentar a sua disponibilidade. Daqui resulta, não só uma maior disponibilidade de arsênio para as plantas como também significa que o elemento pode ser lixiviado podendo vir a tornar-se perigoso para o ambiente e para os seres vivos. Assim, é necessário ter em atenção que a aplicação de aditivos fosfatados ao solo pode melhorar a nutrição das plantas a este nível mas também pode ter um efeito negativo sobre a absorção de arsênio para as plantas e para os animais. No entanto, uma maior disponibilidade de arsênio proporciona a implementação de técnicas de remediação de solos que mais facilmente conseguirão extrair o elemento dos locais contaminados.

### **Influência dos aditivos no crescimento das plantas e seu comportamento na absorção e translocação de arsênio**

Relativamente à cultura do tomateiro o tratamento que contribuiu para um maior desenvolvimento das plantas foi o de matéria orgânica seguido pelas duas concentrações de fosfato de cálcio. Embora estes tratamentos tenham registado maiores concentrações de arsênio nas raízes, na parte aérea os teores do metalóide foram semelhantes aos dos outros tratamentos. Dos três tratamentos apenas as plantas de  $\text{PCa}_{12}$  apresentaram valores

de arsénio na parte aérea muito superiores às plantas de  $C_{\text{PENEDONO}}$  e aos restantes tratamentos, apresentando-se as suas plantas mais fragilizadas do que as plantas de MO e  $\text{PCa}_4$ . Comparativamente ao solo de Penedono sem aditivos, os tratamentos MO,  $\text{PCa}_4$  e  $\text{PCa}_{12}$  demonstraram resultados muito superiores no que diz respeito ao crescimento desta cultura. Os óxidos de ferro, embora induzissem menores disponibilidades de arsénio no solo, não foram benéficos ao crescimento do tomateiro e não revelaram nenhuma melhoria significativa quanto ao solo original contaminado.

No tomateiro o único tratamento que levou à diminuição da concentração de arsénio nas raízes, em comparação a  $C_{\text{PENEDONO}}$  foi  $\text{Fe}_3$ , no entanto, as plantas apresentaram um crescimento muito baixo com este tratamento. Quanto à diminuição de arsénio na parte aérea relativamente às plantas de  $C_{\text{PENEDONO}}$ , todos os aditivos se mostraram benéficos, excepto  $\text{PCa}_{12}$ , embora as plantas tenham apresentado um bom crescimento. Concluiu-se assim, que o tratamento de matéria orgânica registou os melhores resultados em todos os parâmetros analisados no tomateiro, enquanto que os óxidos de ferro registaram os piores resultados, bastante semelhantes ao solo original contaminado.

Já no caso da salsa, o único tratamento que apresentou resultados positivos quanto ao crescimento das plantas e mostrou semelhanças com o solo não contaminado de Pegões foi  $\text{PCa}_{12}$ , tratamento no qual se verificou o maior teor de arsénio na parte aérea. Tal como nas plantas de tomateiro, também na salsa este tratamento foi o único a apresentar concentrações de arsénio na parte aérea superiores a  $C_{\text{PENEDONO}}$  mas com melhores resultados relativamente ao crescimento das plantas. Na raiz,  $\text{Fe}_3$  voltou a ser o único aditivo que fez diminuir a concentração de arsénio, mais uma vez, sem resultados positivos para o desenvolvimento da planta.

Na salsa observou-se uma maior translocação de arsénio para a parte aérea relativamente ao tomateiro que apresenta uma maior tendência para concentrar o arsénio na raiz. No entanto, concluiu-se que nenhuma das plantas é acumuladora de arsénio, embora apresentem comportamentos diferentes quanto à assimilação e translocação do elemento.

### **Influência dos aditivos nas características do solo**

Quanto ao pH e teor em carbono orgânico e macronutrientes o tratamento de matéria orgânica foi aquele que, em termos globais, teve uma maior influência na melhoria das condições de pH e no fornecimento de elementos necessários ao desenvolvimento das plantas.

Relativamente à actividade enzimática do solo nu concluiu-se que  $\text{Fe}_1$  foi o único tratamento que fez aumentar significativamente a actividade da desidrogenase em

comparação com o solo original de Penedono. Quanto à fosfatase ácida verificou-se o maior aumento na sua actividade com o tratamento de matéria orgânica, enquanto que a adição de fosfato de cálcio não alterou significativamente o comportamento desta enzima.

Concluiu-se ainda que a presença das plantas de tomateiro e de salsa não provocaram alterações significativas quanto à actividade da desidrogenase e da fosfatase ácida comparativamente ao solo nu.

### **Considerações finais**

A partir da análise deste trabalho torna-se claro que a disponibilidade dos elementos do solo, neste caso do arsénio, pode ser influenciada, quer positiva quer negativamente, pelos aditivos que se aplicam ao solo. Ao tornar-se mais disponível o arsénio pode ser absorvido pelas plantas que podem não apresentar efeitos tóxicos visíveis se a concentração do elemento não for excessiva. Embora em doses mais baixas o elemento pode ser translocado para a parte aérea em concentrações que podem ser tóxicas para os animais, incluindo o ser humano.

Assim, torna-se necessário determinar a fracção disponível dos elementos contaminantes em solos degradados e determinar a tolerância das espécies vegetais aos mesmos, com maior importância para aquelas que são utilizadas na alimentação do Homem como é o caso das hortícolas. Deve também ter-se em conta a utilização de aditivos na alteração do comportamento daqueles elementos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abedin, M. J. e Meharg, A. A., 2002. Relative toxicity of arsenite and arsenate on germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant and Soil* **243**: 57-66.
- Abreu, M.M., 2008. *Apontamentos da Unidade Curricular de Remediação – Estado de algumas áreas mineiras portuguesas e sua recuperação*. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Abreu, M.M., Matias, M.J., Magalhães, M.C.F. e Basto, M.J., 2007. Potencialidades do *Pinus pinaster* e *Cytisus multiflorus* na fitoestabilização da escombreira na mina de ouro de Santo António. *Revista de Ciências Agrárias* **30**: 335-349.
- Abreu, M.M., Tavares, M.T. e Batista, M.J., 2008. Potential use of *Erica andevalensis* and *Erica australis* in phytoremediation of sulphide mine environments: São Domingos, Portugal. *Journal of Geochemical Exploration* **96**: 210-222.
- ActLabs (2006). Actlabs Group of Companies.  
<http://www.actlabs.com/home.html> (Acedido a 28/09/08).
- Adriano, D.C., 1986. *Trace elements in the terrestrial environment*. Springer Verlag. New York, USA.
- Akhter, F., Uddin, M.S., Balasubramanian, R., Mridha, A.U. e Tenuta, M., 2006. Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) Reduce Arsenic Uptake of Tomato (*Lycopersicon esculentum*) in Contaminated Soil.  
[http://www.umanitoba.ca/afs/agronomists\\_conf/proceedings/2006/akhter\\_arbuscular\\_mycorrhizal.pdf](http://www.umanitoba.ca/afs/agronomists_conf/proceedings/2006/akhter_arbuscular_mycorrhizal.pdf) (Acedido a 29/6/07).
- Alkorta, I., Hernández-Allicab, J. e Garbisu, C., 2004. Plants against the global epidemic of arsenic poisoning. *Environment International* **30**: 949-951.
- Almeida, D., 2006. *Manual de Culturas Hortícolas*. Editorial Presença. Lisboa. Vol. I.
- Amaro, P., 2003. *A protecção integrada*. ISA/Press. Cadaval.
- Araújo, A.S.F e Monteiro, R.T.R, 2007. Indicadores biológicos de qualidade do solo. *Bioscience Journal* **23**: 66-75.
- Bai, J., Lin, X., Yin, R., Zhang, H., Junhua, W., Xueming, C., e Yongming, L., 2008. The influence of arbuscular mycorrhizal fungi on As and P uptake by maize (*Zea mays* L.) from As-contaminated soils. *Applied Soil Ecology* **38**: 137-145.
- Bandick, A.K. e Dick, R.P., 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* **31**: 1471-1479.
- Bauer, M. e Blodau, C., 2006. Mobilization of arsenic by dissolved organic matter from iron oxides, soils and sediments. *Science of the Total Environment* **354**: 179-190.
- Bettencourt, A.M.M., 1990. *Especiação e biogeoquímica do arsénio no estuário do Tejo*. Dissertação de Doutoramento, Universidade de Évora, Évora.
- Bosch, D.J. e Wolfe, M.L., 1999. Soil and water quality in agriculture, assessing and improving. In *Encyclopedia of environmental pollution and cleanup*. Wiley-Interscience. New York, USA. Vol II.

- Botelho, F., 2006. Salsa, diurética e anti-depressiva. *Jardins* **45**: 18.
- Bourguerra, M.L., 1997. *A poluição invisível*. Instituto Piaget, Lisboa.
- Brady, N. e Weil, R., 2002. *The nature and properties of soil*. Prentice Hall, New Jersey, USA, 13<sup>a</sup> ed.
- Bronkowska, M., Figurska-Ciura, D., Orzeł, D., Styczyńska, M., Wyka, J., Loźna, K., Żechałko-Czajkowska, A. e Biernat, J., 2008. Evaluation of plant products from the Legnicko–Głogowski region for their contamination with arsenic. *Food Chemistry* **109**: 4-7.
- Bunzl, K., Trautmannsheimer, M., Schramel, P. e Reifenhäuser, W., 2001. Availability of Arsenic, Copper, Lead, Thallium, and Zinc to Various Vegetables Grown in Slag-Contaminated Soils. *Journal of Environmental Quality* **30**: 934-939.
- Burló, F., Guijarro, I., Carbonell-Barrachina, A.A., Valero, D. e Sánchez, F.M., 1999. Arsenic Species: Effects on and Accumulation by Tomato Plants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **47**: 1247 -1253.
- Carbonell-Barrachina A. A., Burló-Carbonell, F. e Mataix-Beneyto J., 1995. Arsenic uptake, distribution, and accumulation in tomato plants: effect of arsenite on plant growth and yield. *Journal of Plant Nutrition* **18**: 1237-1250.
- Carbonell-Barrachina, A.A., Burló, F., Burgos-Hernández, A., López, E. e Mataix, J., 1997. The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plants. *Scientia Horticulturae* **71**: 167-176.
- Carter, M.R., 1999. Soil quality, analytical methods for its characterization. In agriculture, assessing and improving. In *Encyclopedia of environmental pollution and cleanup*. Wiley-Interscience. New York, USA. Vol II.
- Carvalho, J.L. e Pagliuca, L.G., 2007. Tomate, um mercado que não pára de crescer. *Hortifruti Brasil*: 6-14.  
[http://www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/58/mat\\_capa.pdf](http://www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/58/mat_capa.pdf) (Acedido a 20/08/08).
- Chaperon, S. e Sauvé, S., 2007. Toxicity interaction of metals (Ag, Cu, Hg, Zn) to urease and dehydrogenase activities in soils. *Soil Biology & Biochemistry* **39**: 2329-2338
- Chaturvedi, I., 2006. Effects of arsenic concentrations on growth and arsenic uptake and accumulation by rice (*Oryza sativa*) genotypes. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* **5**: 1546-1552.
- Clemente, R., Dickinson, N.M. e Lepp, N.W., 2008. Mobility of metals and metalloids in a multi-element contaminated soil 20 years after cessation of the pollution source activity. *Environmental Pollution* **155**: 254-261.
- Costa, J.B., 2004. *Caracterização e constituição do solo*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 7<sup>a</sup> ed.
- Costagliola, P., Benvenuti, M., Chiarantini, L., Bianchi, S., Benedetto, F., Paolieri, M. e Rossato, L., 2008. Impact of ancient metal smelting on arsenic pollution in the Pecora River Valley, Southern Tuscany, Italy. *Applied Geochemistry* **23**: 1241-1259.
- Dobran, S. e Zagury, G.J., 2006. Arsenic speciation and mobilization in CCA-contaminated soils: Influence of organic matter content. *Science of the Total Environment* **364**: 239-250.

Eivazi, F. e Tabatabai, M.A., 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biogeochemistry* **9**: 167-172.

Egnér, H., Riehm, H., Domingo, W.R., 1960. Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Böden. II. Chemische Extraktionsmethoden zur Phosphor und Kaliumbestimmung. *Kungliga Lanbrukshögskolans Annaler* **26**: 199-215.

Environment Agency, 2002. Soil guideline values for arsenic contamination. Bristol, U.K. [www.clarrc.ed.ac.uk/index.php?option=com\\_docman&task=download&id=12](http://www.clarrc.ed.ac.uk/index.php?option=com_docman&task=download&id=12) (Acedido a 02/09/08).

Evangelou, V.P., McDonald, L. M. e Seta, A.K., 1999. Acid mine drainage. In *Encyclopedia of environmental pollution and cleanup*. Wiley-Interscience. New York, USA. Vol I.

Farid, A.T.M., Roy, K. C., Hossain, K. M. e Sen, R., 2003. A Study of Arsenic Contaminated Irrigation Water and its Carried Over Effect on Vegetable. *BUET-UNU International Symposium of Fate of Arsenic in the Environment*, Dhaka, Bangladesh. <http://www.unu.edu/env/Arsenic/Dhaka2003/08-Farid.pdf> (Acedido a 29/06/07).

Freedman, B., 1995. *Environmental ecology*. Academic Press, San Diego, USA. 2ª ed.

Geng, C.N., Zhu Y.G., Tong Y.P., Smith S.E. e Smith, F.A., 2006. Arsenate (As) uptake by and distribution in two cultivars of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Chemosphere* **62**: 608-615.

Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leiros, M.C. e Seoane, S., 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology & Biochemistry* **37**: 877-887. (Acedido a 13/09/08).

Grossl, P.R., Eick, M. e Grafe, M., 2004. Biogeochemistry of arsenic in iron oxide systems. *SuperSoil, 3<sup>rd</sup> Australian New Zealand Soils Conference*, University of Sydney, Australia.

Häni, H., 1994. Soil pollution. In *Encyclopedia of agricultural science*. Academic Press. San Diego, USA. Vol. IV, 133-138 pp.

Hanson, S.W.F., 1945. Notes, arsenic in dried parsley. <http://www.rsc.org/delivery/ArticleLinking/DisplayArticleForFree.cfm?doi=AN9457000048&JournalCode=AN> (Acedido a 20/08/08)

Harper, M. e Miranda, G.P., 1990. Management of health risks in the arsenic production industry: modern production in Chile in the context of past experience in Britain. *The Annals of Occupational Hygiene* **34**: 471-482.

Hartley, W. e Lepp, N.W., 2008. Remediation of arsenic contaminated soils by iron-oxide application, evaluated in terms of plant productivity, arsenic and phytotoxic metal uptake. *Science of the Total Environment* **390**: 35-44.

Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica, 1990. *O Clima de Portugal. Normais Climatológicas da Região Entre Douro e Minho e Beira Litoral, correspondentes a 1951-1980*. Lisboa.

Jeong, Y., Fan, M., Singh, S., Chuang, C.L., Saha, B., e Leeuwe, J.H., 2007. Evaluation of iron oxide and aluminum oxide as potential arsenic(V) adsorbents. *Chemical Engineering and Processing* **46**: 1030-1039.

Kabata-Pendias, A. & Pendias, H., 2001. *Trace elements in soils and plants*. CRC Press, Boca Raton, USA. 3<sup>a</sup> ed.

Keeney, D. R. e Nelson, D. W., 1982. Nitrogen-inorganic forms. In Page A., Miller R., Keeney, D. R. (eds.). *Methods of Soils Analysis*, 2<sup>a</sup> Ed. Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA.

Kissel, J., Weppner, S. e Shirai, J., 2003. *Farm Exposures to Deposited Arsenic and Lead on Vashon Island*. Department of Environmental Health, University of Washington.

Kumpiene, J., Ore, S., Renella, G., Mench, M., Lagerkvist, A. e Maurice, C., 2006. Assessment of zerovalent iron for stabilization of chromium, copper, and arsenic in soil. *Environmental Pollution* **144**: 62-69.

Lee, J.S., Lee, S.W., Chon, H. T., Kim, K. W., 2008. Evaluation of human exposure to arsenic due to rice ingestion in the vicinity of abandoned Myungbong Au-Ag mine site, Korea. *Journal of Geochemical Exploration* **96**: 231-235.

Lorenz, N., Hintemann, T., Kramarewa, T., Katayama, A., Yasuta, T., Marschner, P. e Kandeler, E., 2006. Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure. *Soil Biology & Biochemistry* **38**: 1430-1437.

Ma, L., Tu, C. e Komar, K., 2001. A fern that hyperaccumulates arsenic – a hardy, versatile, fast-growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils. *Nature*: 409–579.

Madeira, A.C., Ferreira, A., Varennes, A. e Vieira, M.I., 2003. SPAD meter versus tristimulus colorimeter to estimate chlorophyll content and leaf color in sweet pepper. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **34**: 2461-2470.

Magalhães, M.C.F., 2002. Arsenic. An environmental problem limited by solubility. *Pure Applied Chemistry* **74**: 1843-1850.

Manual de Fertilização das Culturas, 2000. Ed. INIA-LQRS.

Mascher, R., Lippmann, B., Holzinger, S. e Bergmann, H., 2002. Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants. *Plant Science* **163**: 961-969.

Matias, M.J., Abreu, M.M., Oliveira, J.M.S., Magalhães, M.C., Basto, M.J., Ávila, P. e Joaquim, C., 2003. *A mina de ouro de Santo António – Penedono. Consequências ambientais da exploração mineira e seu abandono*. IV Congresso Ibérico de Geoquímica, Universidade de Coimbra, 337-339.

McBride, M.B., 1994. *Environmental chemistry of soils*. Oxford University Press, New York, USA. 310-328 pp.

Meharg, A.A. e Macnair, M.R., 1990. An altered phosphate-uptake system in arsenate-tolerant *Holcus lanatus* L. *New Phytologist* **116**: 29-35.

Meharg, A. A. e Hartley-Whitaker, J., 2002. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist* **154**: 29-43.

Melo, W.J., 1988. Enzimas no solo. In Moniz, A.C. et al. (eds). *A responsabilidade social da Ciência do Solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas: 365-378.

Miteva, E., 2002. Accumulation and effect of arsenic on tomatoes. *Communications in Soil Science and Plant* **33**: 1917-1926.

Miteva, E., Hristova, D., Nenova, V. e Maneva, S., 2005. Arsenic as a factor affecting virus infection in tomato plants: changes in plant growth, peroxidase activity and chloroplast pigments. *Scientia Horticulturae* **105**: 343-358.

Moreno-Jiménez, E., Peñalosa, J.M., Manzano, R., Carpena-Ruiz, R.O., Gamarra, R. e Esteban, E., 2008. Heavy metals distribution in soils surrounding an abandoned mine in NW Madrid (Spain) and their transference to wild flora. *Journal of Hazardous Materials* **162**: 854-859.

Navarro, M.C., Pérez-Sirvent, C., Martínez-Sánchez, M.J., Vidal, J., Tovar, P.J. e Bech, J., 2008. Abandoned mine sites as a source of contamination by heavy metals: A case study in a semi-arid zone. *Journal of Geochemical Exploration* **96**: 183-193.

Naylor, J., Macnair, M.R., Williams, E.N.D. e Poulton, P.R., 1996. A polymorphism for phosphate uptake/arsenate tolerance in *Holcus lanatus* L.: is there a correlation with edaphic or environmental factors?. *Heredity* **77**: 509-517.

Oliveira, J.M.S., Farinha, J., Matos, J.X., Ávila, C.R., Machado, M.C.J., Daniel, F.S., Martins, L. e Leite, M.R.M., 2002. Diagnóstico ambiental das principais áreas mineiras degradadas do País. *Boletim de Minas* **39**: 67-85.

Padovani, M.I., 1989. *Tomate, o fruto do amor que conquistou o mundo*. Ícone Editora. São Paulo. 2ª ed.

Pfeifer, H.R., Häussermann, A., Lavanchy, J.C. e Halter, W., 2007. Distribution and behavior of arsenic in soils and waters in the vicinity of the former gold-arsenic mine of Salanfe, Western Switzerland. *Journal of Geochemical Exploration* **93**: 121-134.

Philp, R.B., 1995. *Environmental hazards & human health*. Lewis Publishers, Boca Raton, USA.

Pinto, C. F., 2008. *Apontamentos da Unidade Curricular de Remediação – Implementação de uma acção de remediação*. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Póvoas, I. & Barral, M.F., 1992. *Métodos de Análise de Solos*. Série de Ciências Agrárias. Instituto de Investigação Científica Tropical. Ministério do Planeamento e da Administração do Território, Secretaria de Estado da Ciência e Tecnologia. Lisboa.

Rahman, M.A., Hasegawa, H., Rahman, M.M., Islam, M.N., Miah, M.A.M. e Tasmin A., 2007. Effect of arsenic on photosynthesis, growth and yield of five widely cultivated rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Bangladesh. *Chemosphere* **67**: 1072-1079.

Rahman, M.A., Hasegawa, H., Rahman, M.M., Islam, M.N., Miah, M.A.M. e Tasmin A., 2008a. Arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.): Human exposure through food chain. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **69**: 317-324.

Rahman, M.A., Hasegawa, H., Ueda, K., Maki, T., Rahman, M.M., 2008b. Influence of phosphate and iron ions in selective uptake of arsenic species by water fern (*Salvinia natans* L.). *Chemical Engineering Journal* **145**: 179-184.

Rahman, M.A., Hasegawa, H., Ueda, K., Maki, T., Rahman, M.M., 2008c. Arsenic uptake by aquatic macrophyte *Spirodela polyrrhiza* L.: Interactions with phosphate and iron. *Journal of*



*Hazardous Materials* **160**: 356-361.

Reese, Jr., R.G., 1997. Arsenic.

<http://www.epa.gov/epaoswer/other/mining/minedock/id/id4-ars.pdf> (Acedido a 16/08/08)

Reible, D.D., 1998. *Fundamentals of environmental engineering*. Lewis Publishers, Boca Raton, USA.

Řezanka, T. e Sigler, K., 2008. Biologically active compounds of semi-metals. *Phytochemistry* **69**: 585-606.

Rowson, J.M. e Waterhouse, C. E., 1939. Contamination of Parsley with Arsenic. *Pharm. Journal* **142**: 329.

<http://www.rsc.org/delivery/ArticleLinking/DisplayArticleForFree.cfm?doi=AN9396400432&JournalCode=AN> (Acedido a 20/08/08).

Saha, S., Mina, B.L., Gopinath, K.A., Kundu, S. e Gupta, H.S., 2008. Relative changes in phosphatase activities as influenced by source and application rate of organic composts in field crops. *Bioresource Technology* **99**: 1750-1757.

Saywell, T., 2007. Colt picks up where the Romans left off Portugal's Pro-Mining Policies Fast-Track Penedono Development. *The Global Mining Newspaper* 93 (37).

Schwertmann, U. e Cornell, R.M., 1991. *Iron oxides in the laboratory*. VCH Publishers, New York, USA.

Sequeira, C. e Coelho, A., 2006. A importância do modo de realização dos estudos de avaliação da contaminação de solos e águas subterrâneas. *Tecnologias do Ambiente* **72**: 18-21.

Simon, J.E., Rabin, J e Clavio, L., s/d. *Parsley: A Production Guide*. Commercial Horticulture, Department of Horticulture of Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA.

<http://www.ces.purdue.edu/extmedia/HO/HO-202.html> (Acedido a 27/07/08).

Smith, E., Juhasz, A.L. e Naidu, R., 2008. Arsenic uptake and speciation in rice plants grown under greenhouse conditions with arsenic contaminated irrigation water. *Science of the Total Environment* **392**: 277-283.

Smith, E., Smith, J. e Naidu, R., 2006. Distribution and nature of arsenic along former railway corridors of South Australia. *Science of the Total Environment* **363**: 175-182.

Smith, R., sem data. Arsenic: a murderous History.

<http://www.dartmouth.edu/~toxmetal/TXSHas.htm> (Acedido a 30/08/08).

Stoeva, N., Berova, M. e Zlatev, Z., 2005. Effect of arsenic on some physiological parameters in bean plants. *Biologia Plantarum* **49**: 293-296.

Tao, Y., Zhang, S., Jian, W., Yuan, C. e Shan, X., 2006. Effects of oxalate and phosphate on the release of arsenic from contaminated soils and arsenic accumulation in wheat. *Chemosphere* **65**: 1281-1287.

Tabatabai, M.A. e Bremner, J.M., 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* **1**: 301-307.

Tabatabai, M.A., 1994. Soil enzymes. In *Methods of soil analysis, Part 2, Microbiological and*

*Biochemical Properties*. Ed. Weaver, R.W., Angle, S., Bottomley, P., Bezdicsek, D., Smith, S., Tatabai, A., Wollum, A. Soil Science Society of America Book Series, Number 5. Soil Science Society of America, Madison, USA.

Tejada, M., Moreno, J.L., Hernández, M.T. e García, C., 2008a. Soil amendments with organic wastes reduce the toxicity of nickel to soil enzyme activities. *European Journal of Soil Biology* **44**: 129-140.

Tejada, M., Gonzalez, J.L., García-Martínez, A.M. e Parrado, J., 2008b. Effects of different green manures on soil biological properties and maize yield. *Bioresource Technology* **99**: 1758-1767.

Tinsley, J., 1956. The extraction of organic matter from soils with formic acid. *Transaction 6<sup>th</sup> International Soil Science*, Paris, 541-546 pp.

Tlustoš, P., Száková, J., Pavlíková, D. e Balík, J., 2006. The response of tomato (*Lycopersicon esculentum*) to different concentrations of inorganic and organic compounds of arsenic. *Biologia* **61**: 91-96.

Tripathi, R.D., Srivastava, S. Mishra, S., Singh, N., Tuli, R., Gupta, D.K., e Maathuis, F.J.M., 2007. Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. *Trends in Biotechnology* **25**: 158-165.

U.S. Geological Survey, 2007. Arsenic statistics, in Kelly, T.D. and Matos, G.R. Historical statistics for mineral and material commodities in the United States: U.S. Geological Survey Data Series 140.

<http://pubs.usgs.gov/ds/2005/140/> (Acedido a 27/07/08)

Varennas, A., 2003. *Produtividade dos solos e ambiente*. Escolar Editora, Lisboa.

Varennas, A., 2007. *Apontamentos da Disciplina de Monitorização de Ecossistemas*. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Vetterlein, D., Szegedi, K., Ackermann, J., Mattusch, J., Neue, H.U., Tanneberg, H. e Jahn, R., 2007. Competitive Mobilization of Phosphate and Arsenate Associated with Goethite by Root Activity. *Journal of Environmental Quality* **36**: 1811-1820.

Wang, S. e Mulligan, C., 2006. Natural attenuation processes for remediation of arsenic contaminated soils and groundwater. *Journal of Hazardous Materials* **138**: 459-470.

Warren, G.P. e Alloway, B.J., 2003. Reduction of arsenic uptake by lettuce with ferrous sulfate applied to contaminated soil. *Journal of Environmental Quality*, **32**.

Willner, 2007. Arsenic speciation of carrots (*Daucus carota*), bush beans (*Phaseolus vulgaris*), spinach (*Spinacia oleracea*), and lettuce (*Lactuca sativa*) grown in CCA contaminated soil.

<http://briarcliffschools.org/research/Senior/07%20Willner%20paper.pdf> (Acedido a 29/06/07).

Yang, L., Li, T., Li, F., Lemcoff, J.H. e Cohen, S., 2008. Fertilization regulates soil enzymatic activity and fertility dynamics in a cucumber field. *Scientia Horticulturae* **116**: 21-26.

Zeng, M., Liao, B., Lei, M., Zhang, Y., Zeng, Q. e Ouyang, B., 2008. Arsenic removal from contaminated soil using phosphoric acid and phosphate. *Journal of Environmental Sciences* **20**: 75-79.

## **PESQUISA ELECTRÓNICA**

<http://nautilus.fis.uc.pt/st2.5/scenes-e/elem/e03310.html> (Acedido a 30/08/08).

<http://www.actlabs.com/home.html> (Acedido a 28/09/08)

<http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2007/05/30f.htm> (Criado a 30/05/07 e Acedido a 05/06/08).

[http://www.diramb.gov.pt/data/basedoc/TXT\\_LN\\_26350\\_1\\_0001.htm#b0003](http://www.diramb.gov.pt/data/basedoc/TXT_LN_26350_1_0001.htm#b0003) (Acedido a 30/06/07)

[http://www.euro.who.int/document/aig/6\\_1\\_arsenic.pdf](http://www.euro.who.int/document/aig/6_1_arsenic.pdf) (Acedido a 05/06/08).

[http://www.fao.org/nr/water/cropinfo\\_tomato.html](http://www.fao.org/nr/water/cropinfo_tomato.html) (Acedido a 05/06/08).

<http://www.nestle.pt/bemestar/presentation/nutricao/Alimentos.aspx?id=226> (Acedido a 10/06/08).

<http://www.semena.org/sort/tomato1/Tomat1-e.htm> (Acedido a 28/09/08).

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs210/en/index.html> (Acedido a 05/06/08).

ANEXOS

---

## **ANEXO I – MÉTODOS UTILIZADOS NAS ANÁLISES AO SOLO E ÀS PLANTAS**

### **1. Métodos utilizados nas análises ao solo**

#### **1.1 Determinação da fracção total de alguns elementos**

A quantificação dos elementos presentes no solo foi realizada nos Laboratórios ActLabs no Canadá (<http://www.actlabs.com/home.html>). A análise multi-elementar do solo de Penedono foi efectuada após digestão ácida da amostra com HCl, HF, HNO<sub>3</sub>, HClO<sub>4</sub> por Análise Instrumental por Activação de Neutrões (INAA) e Espectrofotometria de Emissão Atómica em Plasma Acoplado (ICP-EAS).

#### **1.2 Síntese da goethite**

Verteram-se 100 ml de uma solução de Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O (1 M) num frasco de polietileno de 2 L, acrescentaram-se 180 ml de KOH (5 M) agitando sempre e fez-se o volume do frasco com água destilada. Tapou-se o frasco e manteve-se a 70 °C durante 60 horas. Ao fim deste tempo o conteúdo do frasco foi centrifugado e o precipitado de goethite foi lavado e seco (Schwertmann e Cornell, 1991).

#### **1.3 Determinação do pH**

Pesaram-se 10 g de amostra terra fina seca ao ar e juntaram-se 25 ml de água deixando-se a reagir, agitando regularmente, durante uma hora. Calibrou-se o aparelho com as soluções tampão de pH 4 e pH 7 e procedeu-se à leitura do pH das amostras num potenciómetro com eléctrodo de vidro combinado (Póvoas e Barral, 1992).

#### **1.4 Determinação do fósforo assimilável**

Pesaram-se 2 g da amostra de terra fina para um frasco de plástico e adicionaram-se 40 ml de solução de Égner-Riehm (lactato de amónio e ácido acético tamponizado pH 3,5). Agitou-se durante 2 horas ao fim das quais a solução foi filtrada com filtro de banda azul.

Foi necessário efectuar uma diluição de 10% nas amostras, com água destilada, para que os valores lidos no espectrofotómetro se encontrassem dentro dos limites de actuação do aparelho. Para tal pipetou-se 1 ml da amostra para um tubo de ensaio e adicionaram-se 9 ml de solução de Égner-Riehm. O volume dos tubos fez-se com 5 ml de água destilada. De seguida juntou-se 1 ml de uma primeira solução extractante (0,0875 g

de cloreto estanoso numa proveta de 25 ml + 13,75 ml de ácido clorídrico (10 N) perfazendo-se o volume com água destilada) e 2 ml de da segunda solução extractante (50 ml de solução de molibdato de amónio + 50ml de solução de reagente foto-rex). Agitou-se e, ao fim de uma hora, o teor em fósforo foi determinado num espectrofotómetro de absorção molecular (Hitachi U-2000 UV/Vis Spectrophotometer) para o comprimento de onda 765 nm (Égner-Riehm, 1960).

### **1.5 Determinação do potássio assimilável**

Pesaram-se 2 g da amostra de terra fina para um tubo de ensaio e adicionaram-se 40 ml de solução de Égner-Riehm (lactato de amónio e ácido acético tamponizado pH 3,5). Agitou-se durante 2 horas ao fim das quais a solução foi filtrada com filtro de banda azul.

Tal como para o fósforo também foi necessário realizar a diluição a 10% das amostras pela mesma razão. Pipetou-se 1 ml de amostra para um tubo de ensaio e perfez-se com solução de Égner-Riehm até aos 10 ml. O teor neste elemento foi determinado num fotómetro de chama (Flame Photometer 410) (Égner-Riehm, 1960).

### **1.6 Determinação do carbono orgânico**

Segundo o método de Tinsley (1956) pesaram-se 0,5 g de amostra para balões de ataque, adicionaram-se 20 ml de solução extractante (9,935 g de dicromato de sódio + 100 ml de ácido ortofosfórico + 200 ml de ácido sulfúrico – 0,4 N) a cada tubo e colocaram-se na placa de aquecimento. Deixou-se ferver moderadamente durante 2 horas e após arrefecimento dos balões adicionaram-se 4 ml de solução indicadora (0,3 g de difenilamina-sulfonato de bário + 58,7 g de cloreto de bário) e 100 ml de água.

Titulou-se com solução de sal de Mohr 0,4 N (78,43 g de sulfato ferroso amoniacal.6H<sub>2</sub>O + 10ml de ácido sulfúrico L<sup>-1</sup>) até ocorrer o aparecimento de coloração verde esmeralda. Efectuaram-se dois ensaios em branco (mistura de 20 ml de solução extractante e 4 ml de solução indicadora num volume total de 150 ml perfeitos com água destilada).

### **1.7 Determinação da fracção de azoto mineral**

Pesaram-se 10 g de amostra para tubos de plástico e adicionaram-se 100 ml de solução extractante (CaCl<sub>2</sub> 0,01 M). Os tubos foram então agitados mecanicamente durante duas horas à temperatura ambiente. De seguida, decantou-se cerca de 60 ml do extracto para tubos de centrífuga e centrifugou-se o seu conteúdo durante 10 minutos a cerca de 3000 rpm de velocidade. Procedeu-se às leituras num aparelho Autoanalisador “SKALAR”

de fluxo segmentado (azoto amoniacal e nitratos+nitritos) (Keeney & Nelson, 1982).

## **1.8 Determinação da fracção de azoto orgânico**

A determinação da fracção de azoto orgânico foi efectuada a partir do método de Kjeldahl. Pesaram-se 5 g de amostra para tubos de digestão aos quais se adicionaram 30 ml de HCl concentrado e uma colher de catalisador. De seguida os tubos foram colocados no digestor a uma temperatura de 400 °C durante 3 a 4 horas. Passado este período de tempo os tubos foram colocados no destilador Pro-Nitro M tendo-se recolhido cerca de 250 ml do líquido de destilação que foi posteriormente titulado com HCl até ao ponto de equivalência.

## **1.9 Actividade enzimática**

### **1.9.1 Desidrogenase**

A actividade da desidrogenase foi determinada através do método descrito por Tabatabai (1994). Após crivagem do solo numa malha de 2 mm pesaram-se 3,0 g de solo para três tubos, dois para incubação com o substrato TTC (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride em tampão Tris) e um de controlo. Nos tubos de incubação adicionaram-se 3,0 ml de TTC e no tubo de controlo 3,0 ml de tampão Tris (0,1 M, pH 7,8).

Os tubos foram fechados com parafilm e agitados suavemente, de forma a evitar o arejamento excessivo e, foram colocados a incubar durante 16 a 18 horas a 25 °C no escuro. Adicionaram-se então 6 ml de acetona para extracção do TPF (Padrão TPF triphenylformazan) formado, homogeneizou-se em agitador vortex e colocou-se durante mais 2 horas no escuro. De seguida, filtrou-se em câmara escura e mediu-se de imediato a absorvância a 546 nm num espectrofotómetro de absorção molecular (Hitachi U-2000 UV/Vis Spectrophotometer), tendo o cuidado de proteger as amostras da luz,

### **1.9.2 Fosfatase ácida**

O método de determinação da actividade da fosfatase ácida é baseado na determinação do *p*-nitrofenol libertado após a incubação do solo com o substrato *p*-nitrofenilfosfato (PNP ácido) Sigma 104-0 durante 1 hora a 37 °C.

Utilizaram-se dois controlos e três repetições colocando-se nos tubos de ensaio 1 g de solo húmido crivado a 2 mm. De seguida adicionaram-se 0,25 ml de tolueno, 4 ml da solução tampão MUB (12,1 g de tris(hidroximetil)aminometano + 11,6 g de ácido maleico +

14,0 g de ácido cítrico + 6,3 g de ácido bórico dissolvidos em 500 ml de NaOH 1 N e diluídos até 1000 ml com água destilada) a pH 6,5 e 1 ml da solução de substrato PNP ácido (25 mM). Os tubos foram agitados, tapados e as amostras incubadas durante 1 hora a 37 °C. Adicionou-se então 1 ml de  $\text{CaCl}_2$  0,5 M e 4 ml de NaOH 0,5 M e os tubos foram de novo agitados tendo-se filtrado o seu conteúdo com papel de filtro de banda azul ( $\varnothing$  90 mm). Para os ensaios em branco o procedimento apenas difere no facto de a solução de PNP ácido ser adicionada após a colocação do  $\text{CaCl}_2$  e do NaOH. Por fim, leu-se a absorvância do filtrado a 400 nm contra o ensaio em branco.

Para a leitura das amostras em estudo foi necessário efectuar uma diluição de 25% e as absorvâncias foram lidas num espectrofotómetro de absorção molecular (Hitachi U-2000 UV/Vis Spectrophotometer) (Tabatabai e Bremner, 1969; Eivazi e Tabatabai, 1977).

## **2. Método utilizado na análise das plantas**

### **2.1 Determinação do teor de arsénio e outros elementos minerais das plantas**

Para a determinação do teor em arsénio das plantas (tomateiro e salsa) utilizaram-se as amostras previamente secas e moídas tendo-se efectuado a separação entre raízes, parte aérea e frutos (presentes em algumas plantas de tomateiro). Foram pesadas quantidades entre 0,05 e 0,5 g do material vegetal para tubos de teflon e procedeu-se à digestão com ácido nítrico concentrado (5 ml) em micro-ondas (CEM MDS 2000). A partir dos extractos obtidos foi determinado o teor em arsénio por espectrometria por plasma induzido (ICP). A digestão das plantas foi realizada nos Laboratórios do Departamento de Química Agrícola e Ambiental do Instituto Superior de Agronomia e a leitura dos extractos obtidos foi efectuada no Laboratório Central da Universidade de Aveiro.



## ANEXO II – CARACTERÍSTICAS DO SOLO APÓS COLHEITA DAS PLANTAS

**Quadro 21** – Teores de pH, matéria orgânica, carbono orgânico, azoto orgânico, azoto mineral, fósforo assimilável, potássio assimilável e actividade da desidrogenase ( $\mu\text{g TPF g}^{-1}$  matéria seca  $16\text{h}^{-1}$ ) e da fosfatase ácida ( $\mu\text{mol p-nitrofenol g}^{-1}$  matéria seca  $1\text{h}^{-1}$ )

Tratamento		pH ( $\text{H}_2\text{O}$ )	MO ( $\text{g kg}^{-1}$ )	C <sub>ORGÂNICO</sub> ( $\text{g kg}^{-1}$ )	N <sub>ORGÂNICO</sub> ( $\text{g kg}^{-1}$ )	N <sub>MINERAL</sub> ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	K <sub>2</sub> O ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Desidrogenase	Fosfatase Ácida
Fe <sub>1</sub>	Salsa	4,44 <sup>a</sup>	31,26 <sup>c</sup>	18,13 <sup>bc</sup>	1,34 <sup>ab</sup>	100,3 <sup>de</sup>	237,86 <sup>a</sup>	238,0 <sup>b</sup>	6,61 <sup>ab</sup>	0,964 <sup>ab</sup>
	Tomateiro	4,62 <sup>abc</sup>	33,33 <sup>cd</sup>	19,34 <sup>cd</sup>	1,40 <sup>abc</sup>	61,4 <sup>e</sup>	259,52 <sup>a</sup>	232,0 <sup>b</sup>	8,51 <sup>b</sup>	1,154 <sup>abcde</sup>
	Solo nu	4,42 <sup>a</sup>	31,22 <sup>c</sup>	18,11 <sup>bc</sup>	1,40 <sup>abc</sup>	64,3 <sup>e</sup>	260,68 <sup>a</sup>	234,0 <sup>b</sup>	9,21 <sup>b</sup>	1,252 <sup>bcdefg</sup>
Fe <sub>3</sub>	Salsa	4,44 <sup>a</sup>	24,62 <sup>a</sup>	14,28 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	92,4 <sup>de</sup>	238,08 <sup>a</sup>	206,0 <sup>ab</sup>	9,80 <sup>b</sup>	1,115 <sup>abcd</sup>
	Tomateiro	4,38 <sup>a</sup>	27,97 <sup>abc</sup>	16,22 <sup>abc</sup>	1,40 <sup>abc</sup>	92,4 <sup>de</sup>	256,64 <sup>a</sup>	224,0 <sup>ab</sup>	7,99 <sup>ab</sup>	1,167 <sup>abcde</sup>
	Solo nu	4,46 <sup>ab</sup>	33,13 <sup>cd</sup>	19,22 <sup>cd</sup>	1,44 <sup>abcd</sup>	77,5 <sup>de</sup>	262,10 <sup>a</sup>	236,0 <sup>b</sup>	6,61 <sup>ab</sup>	1,335 <sup>cdefgh</sup>
MO	Salsa	5,01 <sup>de</sup>	33,10 <sup>cd</sup>	19,20 <sup>cd</sup>	2,02 <sup>h</sup>	391,7 <sup>a</sup>	454,78 <sup>ab</sup>	1464,0 <sup>d</sup>	7,58 <sup>ab</sup>	1,535 <sup>ghi</sup>
	Tomateiro	5,57 <sup>f</sup>	33,64 <sup>cd</sup>	19,51 <sup>cd</sup>	2,08 <sup>h</sup>	125,7 <sup>d</sup>	453,60 <sup>ab</sup>	1002,0 <sup>c</sup>	5,02 <sup>ab</sup>	1,671 <sup>hi</sup>
	Solo nu	5,14 <sup>e</sup>	38,17 <sup>d</sup>	22,14 <sup>d</sup>	2,26 <sup>i</sup>	370,2 <sup>a</sup>	409,48 <sup>ab</sup>	1638,0 <sup>e</sup>	6,04 <sup>ab</sup>	1,869 <sup>i</sup>
PCa <sub>4</sub>	Salsa	4,77 <sup>bcd</sup>	29,47 <sup>abc</sup>	17,09 <sup>abc</sup>	1,46 <sup>bcd</sup>	187,4 <sup>c</sup>	615,90 <sup>b</sup>	240,0 <sup>b</sup>	5,43 <sup>ab</sup>	1,069 <sup>abc</sup>
	Tomateiro	5,00 <sup>de</sup>	30,08 <sup>abc</sup>	17,45 <sup>abc</sup>	1,49 <sup>cd</sup>	107,4 <sup>de</sup>	676,46 <sup>b</sup>	134,0 <sup>ab</sup>	5,42 <sup>ab</sup>	1,474 <sup>efgh</sup>
	Solo nu	4,78 <sup>cd</sup>	29,60 <sup>abc</sup>	17,17 <sup>abc</sup>	1,65 <sup>ef</sup>	251,1 <sup>b</sup>	679,26 <sup>b</sup>	258,0 <sup>b</sup>	3,13 <sup>a</sup>	1,180 <sup>abcdef</sup>
PCa <sub>12</sub>	Salsa	5,12 <sup>e</sup>	25,19 <sup>ab</sup>	14,61 <sup>ab</sup>	1,58 <sup>de</sup>	288,5 <sup>b</sup>	1494,4 <sup>c</sup>	132,0 <sup>ab</sup>	6,74 <sup>ab</sup>	1,079 <sup>abc</sup>
	Tomateiro	5,13 <sup>e</sup>	27,72 <sup>abc</sup>	16,08 <sup>abc</sup>	1,76 <sup>fg</sup>	308,4 <sup>b</sup>	1485,0 <sup>c</sup>	100,0 <sup>a</sup>	7,21 <sup>ab</sup>	1,425 <sup>defgh</sup>
	Solo nu	5,07 <sup>de</sup>	30,29 <sup>abc</sup>	17,57 <sup>abc</sup>	1,87 <sup>g</sup>	398,1 <sup>a</sup>	1493,0 <sup>c</sup>	186,0 <sup>ab</sup>	5,70 <sup>ab</sup>	1,071 <sup>abc</sup>
C <sub>PENEDONO</sub>	Salsa	4,55 <sup>abc</sup>	28,26 <sup>abc</sup>	16,39 <sup>abc</sup>	1,41 <sup>abc</sup>	96,1 <sup>de</sup>	184,42 <sup>a</sup>	164,0 <sup>ab</sup>	7,47 <sup>ab</sup>	0,887 <sup>a</sup>
	Tomateiro	4,42 <sup>a</sup>	30,23 <sup>abc</sup>	17,54 <sup>abc</sup>	1,49 <sup>cd</sup>	94,5 <sup>de</sup>	219,38 <sup>a</sup>	174,0 <sup>ab</sup>	9,57 <sup>b</sup>	1,513 <sup>fgh</sup>
	Solo nu	4,46 <sup>a</sup>	30,66 <sup>bc</sup>	17,79 <sup>abc</sup>	1,52 <sup>cde</sup>	89,7 <sup>de</sup>	252,20 <sup>a</sup>	174,0 <sup>ab</sup>	4,93 <sup>ab</sup>	1,070 <sup>abc</sup>
C <sub>PEGÕES</sub>	Salsa	5,28	16,10	9,34	0,45	3,3	83,11	28,4	6,55	0,636
	Tomateiro	5,44	10,52	6,10	0,42	0,8	32,00	14,2	6,95	0,895

Na coluna, médias (n = 5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey).

## ANEXO III – CONCENTRAÇÕES DE ALGUNS ELEMENTOS MINERAIS NA PARTE AÉREA, PARTE RADICULAR DAS PLANTAS E FRUTOS DOS TOMATEIROS

**Quadro 22** – Concentração de sódio, potássio, cálcio, ferro e cobre nos caules e folhas dos tomateiros (colheita final) em mg kg<sup>-1</sup>

Tratamentos	Na	K	Ca	Fe	Cu
Fe <sub>1</sub>	855,0 <sup>e</sup> (114,4)	25293,0 <sup>defg</sup> (2558,0)	32520,1 <sup>ab</sup> (2385,3)	160,8 <sup>abc</sup> (33,5)	21,7 <sup>a</sup> (8,1)
Fe <sub>3</sub>	1172,1 <sup>de</sup> (236,1)	24508,0 <sup>defgh</sup> (2503,7)	35239,5 <sup>a</sup> (3810,4)	239,8 <sup>a</sup> (177,5)	18,3 <sup>ab</sup> (1,2)
MO	1381,0 <sup>de</sup> (194,9)	48780,5 <sup>b</sup> (6896,1)	19694,9 <sup>ed</sup> (1916,6)	101,8 <sup>bcd</sup> (18,3)	1,8 <sup>d</sup> (0,5)
PCa <sub>4</sub>	2041,9 <sup>de</sup> (458,4)	16637,4 <sup>fghi</sup> (1611,5)	24362,5 <sup>cde</sup> (2321,4)	69,8 <sup>cd</sup> (19,7)	2,0 <sup>d</sup> (0,6)
PCa <sub>12</sub>	3089,1 <sup>de</sup> (490,3)	13775,2 <sup>ghi</sup> (5649,5)	20369,7 <sup>de</sup> (3481,2)	34,6 <sup>d</sup> (21,1)	1,7 <sup>d</sup> (0,7)
C <sub>PENEDONO</sub>	1560,5 <sup>de</sup> (626,8)	21332,5 <sup>efghi</sup> (3600,7)	37933,5 <sup>a</sup> (4225,9)	179,3 <sup>abc</sup> (62,7)	18,6 <sup>ab</sup> (3,8)
C <sub>PEGÕES</sub>	554,0 <sup>e</sup> (147,1)	10363,8 <sup>i</sup> (1954,2)	25324,7 <sup>bcd</sup> (3564,8)	103,9 <sup>bcd</sup> (42,0)	8,8 <sup>c</sup> (1,2)

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis

**Quadro 23** – Concentração de sódio, magnésio, alumínio, potássio, cálcio, ferro e cobre na parte aérea da salsa em mg kg<sup>-1</sup>

Tratamentos	Na	Mg	Al	K	Ca	Fe	Cu
Fe <sub>1</sub>	3506,1 <sup>de</sup> (58,3)	5447,6 <sup>cde</sup> (472,2)	294,0 <sup>cd</sup> (0,4)	28613,6 <sup>def</sup> (2323,0)	19999,3 <sup>de</sup> (1407,7)	179,4 <sup>abc</sup> (0,5)	16,6 <sup>ab</sup> (1,2)
Fe <sub>3</sub>	3900,8 <sup>de</sup> (78,1)	5462,0 <sup>cde</sup> (185,0)	208,1 <sup>de</sup> (12,0)	30900,5 <sup>cde</sup> (2119,9)	20466,3 <sup>de</sup> (796,0)	221,7 <sup>ab</sup> (59,7)	16,8 <sup>ab</sup> (1,1)
MO	6714,1 <sup>cd</sup> (210,7)	4765,1 <sup>de</sup> (63,6)	47,4 <sup>f</sup> (17,7)	68552,0 <sup>a</sup> (11,8)	18085,2 <sup>de</sup> (19,1)	14,7 <sup>d</sup> (10,4)	4,9 <sup>cd</sup> (0,9)
PCa <sub>4</sub>	10979,0 <sup>bc</sup> (270,6)	3448,5 <sup>ef</sup> (114,1)	97,4 <sup>ef</sup> (6,1)	11012,3 <sup>hi</sup> (513,7)	33580,8 <sup>a</sup> (866,7)	97,0 <sup>cd</sup> (3,4)	9,1 <sup>c</sup> (0,3)
PCa <sub>12</sub>	17550,0 <sup>a</sup> (2260,5)	2388,2 <sup>fg</sup> (141,7)	13,1 <sup>f</sup> (13,2)	34883,4 <sup>bcd</sup> (6276,4)	31250,2 <sup>abc</sup> (2999,3)	94,9 <sup>cd</sup> (10,3)	8,4 <sup>c</sup> (1,0)
C <sub>PENEDONO</sub>	16511,8 <sup>ab</sup> (9421,3)	4965,9 <sup>de</sup> (243,3)	106,9 <sup>ef</sup> (68,1)	43279,3 <sup>bc</sup> (9097,6)	30766,6 <sup>abc</sup> (9753,0)	165,5 <sup>abc</sup> (9,6)	15,1 <sup>b</sup> (1,1)
C <sub>PEGÕES</sub>	1816,3 <sup>de</sup> (618,9)	7184,0 <sup>bc</sup> (1065,7)	7,0 <sup>f</sup> (4,6)	36427,6 <sup>bcd</sup> (17621,4)	13143,2 <sup>e</sup> (1655,8)	69,2 <sup>cd</sup> (25,0)	7,4 <sup>cd</sup> (1,8)

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

**Quadro 24** – Concentração de sódio, magnésio, alumínio, potássio, cálcio, manganês, ferro, cobre e zinco na raiz dos tomateiros em mg kg<sup>-1</sup>

Tratamentos	Na	Mg	Al	K	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn
Fe <sub>1</sub>	1783,4 <sup>g</sup> (393,5)	8445,6 <sup>b</sup> (3294,2)	8119,4 <sup>bc</sup> (2095,5)	32597,8 <sup>bc</sup> (4448,1)	3481,4 <sup>h</sup> (306,8)	1182,6 <sup>ce</sup> (282,3)	4730,8 <sup>b</sup> (1707,4)	79,9 <sup>a</sup> (19,1)	617,2 <sup>c</sup> (53,6)
Fe <sub>3</sub>	1689,0 <sup>g</sup> (374,6)	10386,0 <sup>ab</sup> (3374,2)	9165,0 <sup>ab</sup> (1349,8)	28746,3 <sup>cd</sup> (2721,0)	3592,4 <sup>h</sup> (418,6)	1071,0 <sup>e</sup> (158,2)	7214,6 <sup>a</sup> (1767,9)	55,8 <sup>abcd</sup> (18,5)	615,6 <sup>c</sup> (42,9)
MO	4764,0 <sup>def</sup> (846,8)	7603,0 <sup>bc</sup> (659,0)	3999,0 <sup>d</sup> (1097,4)	37216,0 <sup>b</sup> (5245,9)	14726,7 <sup>a</sup> (1504,8)	411,2 <sup>fg</sup> (76,6)	2012,3 <sup>cde</sup> (591,5)	26,7 <sup>ef</sup> (8,1)	85,4 <sup>d</sup> (15,1)
PCa <sub>4</sub>	8614,5 <sup>c</sup> (315,9)	3123,2 <sup>def</sup> (501,8)	4216,2 <sup>d</sup> (662,0)	10236,7 <sup>fg</sup> (920,5)	14014,9 <sup>ab</sup> (1320,0)	1638,6 <sup>b</sup> (73,3)	1842,9 <sup>cde</sup> (743,8)	25,6 <sup>f</sup> (6,5)	238,4 <sup>d</sup> (23,3)
PCa <sub>12</sub>	6861,5 <sup>cd</sup> (586,6)	2363,9 <sup>def</sup> (500,2)	4159,2 <sup>d</sup> (159,5)	12214,1 <sup>f</sup> (1712,6)	12635,3 <sup>bc</sup> (454,3)	420,7 <sup>fg</sup> (84,2)	1813,5 <sup>cde</sup> (227,0)	26,5 <sup>ef</sup> (6,2)	191,4 <sup>d</sup> (52,6)
C <sub>PENEDONO</sub>	2403,1 <sup>fg</sup> (387,8)	12444,8 <sup>a</sup> (62,3)	11929,5 <sup>a</sup> (406,0)	33045,2 <sup>bc</sup> (1692,5)	4582,1 <sup>gh</sup> (456,4)	2093,8 <sup>a</sup> (244,6)	7322,3 <sup>a</sup> (15,0)	59,7 <sup>abc</sup> (3,2)	524,0 <sup>c</sup> (23,7)
C <sub>PEGÕES</sub>	3594,4 <sup>efg</sup> (833,2)	3931,6 <sup>def</sup> (572,6)	1125,7 <sup>e</sup> (308,2)	5808,2 <sup>g</sup> (1962,8)	4936,1 <sup>gh</sup> (1141,6)	146,7 <sup>g</sup> (30,6)	1058,5 <sup>de</sup> (180,2)	58,1 <sup>abc</sup> (9,6)	246,4 <sup>d</sup> (46,9)

Na coluna, médias (n = 5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey). Desvio-padrão entre parêntesis.

**Quadro 25** – Concentração de sódio, magnésio, alumínio, potássio, cálcio, manganês, ferro, cobre e zinco na raiz da salsa em mg kg<sup>-1</sup>

Tratamentos	Na	Mg	Al	K	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn
Fe <sub>1</sub>	5044,4 <sup>de</sup> (219,1)	1626,6 <sup>f</sup> (12,9)	6771,5 <sup>bcd</sup> (1217,6)	18698,4 <sup>e</sup> (2,70)	6365,2 <sup>efg</sup> (114,9)	1547,0 <sup>bc</sup> (20,9)	2869,2 <sup>bcd</sup> (502,5)	80,1 <sup>a</sup> (5,7)	1064,5 <sup>a</sup> (85,6)
Fe <sub>3</sub>	3593,78 <sup>efg</sup> (93,9)	1369,6 <sup>f</sup> (23,1)	8165,6 <sup>bc</sup> (2700,8)	15272,5 <sup>ef</sup> (271,1)	5202,3 <sup>fgh</sup> (155,2)	1386,9 <sup>bce</sup> (21,9)	3525,8 <sup>bc</sup> (945,6)	78,5 <sup>a</sup> (11,2)	944,7 <sup>ab</sup> (118,3)
MO	6881,2 <sup>cd</sup> (27,3)	5080,0 <sup>cd</sup> (352,8)	5834,7 <sup>cd</sup> (519,32)	55051,4 <sup>a</sup> (1463,8)	11905,5 <sup>cd</sup> (855,8)	564,3 <sup>f</sup> (97,3)	1497,4 <sup>de</sup> (139,7)	24,7 <sup>f</sup> (1,3)	671,9 <sup>c</sup> (43,6)
PCa <sub>4</sub>	13627,7 <sup>b</sup> (627,9)	2151,9 <sup>ef</sup> (135,1)	5969,6 <sup>cd</sup> (250,2)	14380,6 <sup>ef</sup> (885,4)	10315,2 <sup>d</sup> (328,0)	1581,8 <sup>b</sup> (73,1)	3507,1 <sup>bc</sup> (1415,6)	50,7 <sup>bcd</sup> (2,3)	658,6 <sup>c</sup> (16,7)
PCa <sub>12</sub>	20575,4 <sup>a</sup> (2912,8)	1893,3 <sup>f</sup> (285,5)	4863,1 <sup>d</sup> (2289,3)	16089,1 <sup>ef</sup> (3962,5)	7110,9 <sup>ef</sup> (1126,9)	2369,9 <sup>a</sup> (495,7)	1682,0 <sup>cde</sup> (775,4)	38,4 <sup>cdef</sup> (16,1)	735,7 <sup>bc</sup> (326,0)
C <sub>PENEDONO</sub>	3720,3 <sup>efg</sup> (45,5)	1419,4 <sup>f</sup> (25,1)	6536,2 <sup>bcd</sup> (178,8)	15599,3 <sup>ef</sup> (649,6)	5420,8 <sup>fgh</sup> (15,0)	1315,2 <sup>bce</sup> (5,8)	1811,9 <sup>cde</sup> (60,0)	66,8 <sup>ab</sup> (17,0)	1121,3 <sup>a</sup> (89,1)
C <sub>PEGÕES</sub>	6154,4 <sup>d</sup> (2174,7)	5024,6 <sup>cde</sup> (469,1)	1020,0 <sup>e</sup> (132,1)	25566,3 <sup>d</sup> (3686,2)	7734,4 <sup>e</sup> (2076,4)	1353,1 <sup>bce</sup> (72,9)	590,9 <sup>e</sup> (86,1)	32,2 <sup>def</sup> (9,5)	196,7 <sup>d</sup> (44,1)

Na coluna, médias (n = 5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey).  
Desvio-padrão entre parêntesis.

**Quadro 26** – Concentração de sódio, fósforo, potássio, cálcio, ferro e cobre nos caules e folhas da colheita parcial dos tomateiros (28 dias após transplante) em mg kg<sup>-1</sup>. Desvio-padrão entre parêntesis.

Tratamentos	Na	P	K	Ca	Fe	Cu
Fe <sub>1</sub>	1985,4 <sup>b</sup> (195,5)	1665,3 <sup>c</sup> (94,5)	51345,9 <sup>bc</sup> (3568,3)	34345,3 <sup>b</sup> (2322,7)	188,0 <sup>a</sup> (27,5)	35,2 <sup>a</sup> (1,5)
Fe <sub>3</sub>	1985,8 <sup>b</sup> (84,0)	2187,9 <sup>c</sup> (381,7)	56267,4 <sup>b</sup> (9597,8)	45083,8 <sup>a</sup> (5258,2)	291,6 <sup>a</sup> (71,9)	38,1 <sup>a</sup> (5,0)
MO	4435,3 <sup>a</sup> (1080,4)	3604,1 <sup>b</sup> (783,7)	76572,3 <sup>a</sup> (5730,5)	28739,5 <sup>b</sup> (4109,9)	112,1 <sup>a</sup> (31,3)	9,4 <sup>c</sup> (1,1)
PCa <sub>4</sub>	4690,4 <sup>a</sup> (970,7)	4227,8 <sup>b</sup> (347,9)	45314,7 <sup>bcd</sup> (4404,6)	47403,3 <sup>a</sup> (4780,9)	132,8 <sup>a</sup> (116,5)	10,7 <sup>c</sup> (2,9)
C <sub>PENEDONO</sub>	2592,8 <sup>b</sup> (395,1)	1578,7 <sup>c</sup> (95,7)	40890,2 <sup>cd</sup> (1243,6)	36466,8 <sup>b</sup> (2935,7)	278,2 <sup>a</sup> (45,1)	31,7 <sup>a</sup> (1,1)
C <sub>PEGÕES</sub>	698,0 <sup>c</sup> (254,3)	14498,2 <sup>a</sup> (1162,9)	35983,3 <sup>d</sup> (5445,7)	30679,1 <sup>b</sup> (4686,2)	249,2 <sup>a</sup> (339,1)	23,5 <sup>b</sup> (5,8)

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey).

**Quadro 27** – Concentração de sódio, magnésio, alumínio, fósforo, potássio, cálcio, manganês, ferro, cobre e zinco nos frutos dos tomateiros em mg kg<sup>-1</sup>. Desvio-padrão entre parêntesis

Tratamentos	Na	Mg	Al	P	K	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn
MO	346,9 <sup>c</sup> (68,9)	1958,3 <sup>a</sup> (150,0)	8,8 <sup>ab</sup> (17,5)	2800,5 <sup>b</sup> (320,0)	43040,9 <sup>a</sup> (2709,7)	2149,8 <sup>b</sup> (156,6)	55,4 <sup>cb</sup> (11,2)	26,7 <sup>b</sup> (17,8)	0,5 <sup>b</sup> (0,6)	19,4 <sup>a</sup> (1,9)
PCa <sub>4</sub>	572,1 <sup>b</sup> (62,1)	1851,1 <sup>a</sup> (40,9)	39,0 <sup>a</sup> (27,5)	5985,8 <sup>c</sup> (63,7)	31167,0 <sup>b</sup> (188,4)	7514,4 <sup>a</sup> (287,0)	317,2 <sup>a</sup> (7,2)	331,9 <sup>a</sup> (234,7)	2,1 <sup>b</sup> (1,0)	23,2 <sup>a</sup> (0,6)
PCa <sub>12</sub>	1088,5 <sup>a</sup> (114,4)	1142,1 <sup>b</sup> (74,2)	18,6 <sup>ab</sup> (13,1)	7930,4 <sup>a</sup> (973,3)	29247,4 <sup>b</sup> (2832,7)	5980,9 <sup>a</sup> (3207,2)	87,5 <sup>b</sup> (39,7)	31,2 <sup>b</sup> (22,0)	0,9 <sup>b</sup> (0,7)	22,7 <sup>a</sup> (1,2)
C <sub>PEGÕES</sub>	335,5 <sup>c</sup> (141,3)	1865,3 <sup>a</sup> (491,8)	3,7 <sup>b</sup> (7,7)	6170,6 <sup>c</sup> (607,1)	29367,8 <sup>b</sup> (2860,8)	2319,0 <sup>b</sup> (1066,8)	42,1 <sup>c</sup> (16,5)	25,4 <sup>b</sup> (33,4)	5,5 <sup>a</sup> (1,2)	23,8 <sup>a</sup> (9,9)

Na coluna, médias (n=5) seguidas de letras diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ , Teste de Tukey).